

**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL  
RIMPANG LENGKUAS MERAH (*ALPINIA PURPURATA*) SEBAGAI ANTI  
BAKTERI TERHADAP *Salmonella Typhi* SECARA In Vitro**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh :**

**Wahyu Firmansah**

**NIM :105070103111011**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2014**

## DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Akademik.....	3
1.4.2 Manfaat Praktis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Salmonella Typhi.....	4
2.1.1 Klasifikasi S. Typhi.....	4

2.1.2 Morfologi dan Fisiologi Salmonella Typhi.....	5
2.1.3 Struktur Antigenik Salmonella Typhi.....	5
2.1.4 Patofisiologi.....	6
2.1.5 Manifestasi Klinis.....	8
2.1.6 Diagnosis Laboratorium.....	9
2.1.6.1 Spesimen.....	9
2.1.6.2 Metode Bakteriologik.....	9
2.1.6.3 Metode Serologi.....	10
2.1.7 Pengobatan.....	11
2.2 Rimpang Lengkuas Merah.....	12
2.2.1 Taksonomi Rimpang Lengkuas Merah.....	12
2.2.2 Morfologi dan Persebaran.....	13
2.2.3 Kandungan Kimia dan Kegunaan.....	13
2.2.3.1 Flavonoid.....	14
2.2.3.2 Minyak Atsiri.....	14
2.2.3.3 Terpenoid.....	15
2.2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif Bahan Alam.....	16
2.2.5 Mekanisme Penghambatan Mikroorganisme oleh Antimikroba.....	16
2.2.6 Uji Sensitifitas Bakteri Terhadap Antimikroba.....	18
2.2.6.1 Metode Dilusi.....	18
2.2.6.1.1 Metode Dilusi Tabung.....	18
2.2.6.1.2 Metode Dilusi Agar.....	19



2.2.6.2 Metode Difusi.....	19
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....</b>	<b>21</b>
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	21
3.2 Keterangan Skema Kerangka Konsep Penelitian.....	22
3.3 Hipotesis Penelitian.....	23
<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
4.1 Desain Penelitian.....	24
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
4.3 Sampel Penelitian dan Peengulangan.....	24
4.4 Variabel Penelitian.....	25
4.4.1 Variabel Bebas.....	25
4.4.2 Variabel Tergantung.....	25
4.5 Definisi Operasional.....	25
4.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	26
4.7 Prosedur Penelitian.....	27
4.7.1 Proses Ekstrasi.....	27
4.7.2 Proses Evaporasi.....	27
4.7.3 Identifikasi Bakteri Uji Salmonella Typhi.....	28
4.7.3.1 Inokulasi pada Agar MacKonkey.....	28
4.7.3.2 Pewarnaan Gram.....	28
4.7.3.3 Penanaman pada BSA.....	29
4.7.3.4 Tes Microbact.....	29



4.7.4 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan $10^6$	
Bakteri/ML.....	30
4.8 Uji Antibakteri Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah.....	31
4.9 Analisis Data.....	33
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	35
5.1 Hasil Penelitian.....	35
5.1.1 Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah.....	35
5.1.2 Identifikasi Bakteri <i>Salmonella</i> Typhi .....	35
5.1.3 Hasil Penentuan KHM .....	37
5.2 Analisis Data.....	42
5.2.1. Uji asumsi data .....	43
5.2.1.1 Uji Normalitas Data.....	43
5.2.1.2 Uji Homogenitas Data.....	43
5.2.2 Uji Analisis kruskall Wallis .....	44
5.2.3 Uji Mann-Whitney .....	44
5.2.4 Uji Korelasi Spearmann.....	45
BAB VI PEMBAHASAN.....	47
6.1 Penjelasan Singkat Penelitian.....	47
6.2 Penentuan KHM.....	47
6.3 Penelitian Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah dan S. Typhi.....	48
6.4 Mekanisme Anti Bakteri Ekstrak Lengkuas Merah.....	49
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	52
7.1 Kesimpulan.....	52

7.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....	54
LAMPIRAN.....	58



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. <i>S. Typhi</i> (perbesaran 1000x, pewarnaan Gram, berbentuk batang Gram negatif) (Todar, 2008).....	4
Gambar 2.2 Rimpang Lengkuas Merah ( <i>Alpinia purpurata</i> )(Seidemann, 2005).....	12
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	21
Gambar 5.1 Gambaran Mikroskopik Bakteri <i>S. Typhi</i> (perbesaran 1000x, berbentuk batang, Gram negatif).....	36
Gambar 5.2 Identifikasi pada Mac Conkey agar (koloni tidak berwarna).....	36
Gambar 5.3 Identifikasi pada BSA (koloni berwarna hitam atau <i>Black Jet Colony</i> ).....	37
Gambar 5.4 Identifikasi pada Microbact (akurasi bakteri 99,75%).....	37
Gambar 5.5 Hasil Inokulasi <i>S. Typhi</i> Pada Media MH agar setelah diberi ekstrak rimpang lengkuas merah.....	40
Gambar 5.5 Grafik Diagram Batang Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>S.Typhi</i> .....	41



## DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Derajat Pertumbuhan Koloni <i>Salmonella typhi</i> dalam beberapa konsentrasi.....	41
Tabel 5.2 Nilai Signifikasi (p) pada Uji Mann Whitney.....	45

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## DAFTAR SINGKATAN

KHM	=	Kadar Bunuh Minimal
KHM	=	Kadar Hambat Minimal
NAP	=	<i>Nutrient Agar Plate</i>
MRS	=	Masuk Rumah Sakit
KHTM	=	Kadar Hambat Tumbuh Minimum
MIC	=	<i>Minimal Inhibitory Concentration</i>
MBC	=	<i>Minimal Bactericidal Concentration</i>
MDR	=	<i>Multiple Drug Resistent</i>
KP	=	Kontrol Positif
KN	=	Kontrol Negatif
KB	=	Kontrol Bahan



## ABSTRAK

Firmansah, Wahyu. 2014. **Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) Sebagai Anti Bakteri Terhadap *Salmonella Typhi* Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, Msi. (2) dr. Subandi, M.Kes, DAHK, PA (K).

*Salmonella Typhi* adalah salah satu patogen penyebab penyakit demam tifoid. *S. Typhi* dilaporkan sudah resisten terhadap beberapa obat antimikroba sehingga perlu dilakukan penelitian untuk menemukan alternatif terapi lain. Salah satu alternatif terapi adalah menggunakan bahan alami yaitu rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). Kandungan aktif yang diduga bermanfaat sebagai antimikroba adalah flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antimikroba ekstrak etanol rimpang lengkuas merah terhadap *S. Typhi*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan metode dilusi agar untuk menentukan KHM. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1 isolat *S. Typhi* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Yogyakarta. Konsentrasi akhir ekstrak etanol rimpang lengkuas merah yang digunakan yaitu 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5% dan 0,6%  $\frac{1}{v}$  dengan empat kali pengulangan, sedangkan konsentrasi *S. Typhi* adalah  $10^6$  CFU/ml. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas merah, secara signifikan dapat menghambat pertumbuhan *S. Typhi* (Kruskal Wallis,  $p = 0.000$ ) dan terdapat hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dengan penurunan jumlah pertumbuhan koloni *S. Typhi* (Spearman,  $r = -0.964$ ). KHM ekstrak etanol rimpang lengkuas merah terhadap *S. Typhi* adalah 0,5%  $\frac{1}{v}$ . Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas merah memiliki efek antimikroba terhadap *S. Typhi* secara *in vitro* dengan KHM 0,5%  $\frac{1}{v}$ .

**Kata kunci:** antibakteri, *Salmonella Typhi*, ekstrak rimpang lengkuas merah



## ABSTRACT

Firmansah, Wahyu. 2014. **Antibacterial Effectivity of Red Galangal Rhizome Extract Ethanol (*Alpinia purpurata*) Against Salmonella Typhi *In Vitro***. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine University of Brawijaya. Supervisors : (1) Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, Msi. (2) dr. Subandi, M.Kes, DAHK, PA (K).

*Salmonella* Typhi is a pathogen causing typhoid fever. *S. Typhi* is reported resistant towards several antimicrobial drugs, so it's needed to find other alternative therapy. Alternative therapy is the use of natural materials the Red Galangal Rhizome (*Alpinia purpurata*). The active substances suspected having antimicrobial effect are flavonoids, terpenoids, and essential oils. This experiment aims to verify the antimicrobial effects of ethanolic extract of Red Galangal Rhizome against *S. Typhi*. The antimicrobial test used in this experiment is the agar dilution test to determine the Minimum Inhibitory concentration (MIC). The sample used in this study were 1 isolates of *S. Typhi* obtained from the Laboratory of Medicine, Yogyakarta. The final extract concentration used were 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5% and 0.6%  $\text{v/v}$ , with four repetitions, while the concentration of *S. Typhi* was  $10^6$  CFU/ ml. Statistical analysis showed that the ethanolic extract of Red Galangal Rhizome could significantly inhibit the growth of *S. Typhi* (Kruskal Wallis,  $p = 0.000$ ) and there was a relationship between the increase ethanolic extract of Red Galangal Rhizome concentration with the decrease of *S. Typhi* colony numbers (Spearman,  $r = -0.964$ ). The research also showed that the MIC was 0.5%  $\text{v/v}$ . It can be concluded that ethanolic extract of Red Galangal Rhizome has an antimicrobial effect against *S. Typhi in vitro* with MIC was 0.5%  $\text{v/v}$ .

**Keywords:** *antibacteria, Salmonella Typhi, Red Galangal Rhizome Extract*

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

*Salmonella Typhi* (*S. Typhi*) adalah bakteri batang Gram negatif yang dapat menginfeksi manusia. Bakteri ini mampu menginvasi jaringan di luar usus, menyebabkan demam enterik, dimana bentuk yang terberat adalah demam tifoid (typhoid fever) (Dzen *et al*, 2010). Gejalanya adalah demam lebih dari satu minggu, gangguan pada saluran pencernaan dan gangguan kesadaran (Musnelina, 2004). Gejala-gejala klinis yang timbul dari demam tifoid sangat bervariasi dari ringan sampai dengan berat, dari asimtomatik hingga gambaran penyakit yang khas disertai komplikasi hingga kematian (Widodo, 2009).

Penyakit demam tifoid merupakan penyakit menular endemik yang dapat menyerang banyak orang dan masih merupakan masalah kesehatan di daerah tropis terutama di negara-negara sedang berkembang termasuk Indonesia (Muslinelina, 2004). Pada tahun 2000, diperkirakan lebih dari 2,16 juta kasus demam tifoid terjadi di seluruh dunia, menyebabkan sekitar 216.000 kematian. Lebih dari 90% kematian karena demam tifoid ini terjadi di Asia. Menurut penelitian WHO, insiden demam tifoid tertinggi terjadi di negara-negara Asia Tenggara dan Asia bagian Timur Laut, yaitu Indonesia, India, dan Pakistan (WHO, 2010).

Resistensi *S. Typhi* terhadap kloramfenikol dilaporkan pada tahun 1974 dan dua puluh tahun kemudian dilaporkan resistensi *S. Typhi* terhadap kloramfenikol, ampicilin, dan trimetoprim-sulfametoksazol, atau dikenal sebagai MDR (*Multiple Drug Resistent*) *S. Typhi*. Saat ini peningkatan resistensi *S. Typhi*



terhadap lini kedua yaitu sefalosporin generasi ke-3 dan golongan kuinolon juga telah banyak dilaporkan (Alam, 2011).

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional cenderung mengalami peningkatan dengan adanya isu *back to nature*. Oleh karena itu salah satu pengobatan alternatif yang dilakukan adalah dengan meningkatkan penggunaan tumbuhan berkhasiat obat di kalangan masyarakat. Agar peran obat tradisional dalam pelayanan kesehatan masyarakat dapat meningkat, perlu dilakukan upaya pengenalan, penelitian, pengujian serta pengembangan khasiat dan keamanan suatu tumbuhan obat (Siregar, 2011).

Lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) merupakan anggota familia Zingiberaceae. Rimpang lengkuas merah mudah diperoleh di Indonesia dan manjur sebagai obat gosok untuk penyakit jamur kulit sebelum obat-obatan modern berkembang seperti sekarang. Rimpang lengkuas juga digunakan sebagai salah satu bumbu masak selama bertahun-tahun dan tidak menimbulkan masalah. Manfaat rimpang lengkuas merah telah dipelajari oleh ilmuwan sejak dulu. Rimpang lengkuas merah memiliki berbagai khasiat diantaranya sebagai anti jamur dan anti bakteri (Handajani, 2008). Rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) diketahui mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri (Yuharmen, 2002).

Berdasarkan uraian di atas, diduga bahwa lengkuas merah memiliki potensi sebagai anti bakteri terhadap *S. Typhi* selain karena harga yang cukup terjangkau. Oleh karena itu, ingin diteliti lebih jauh tentang kemungkinan lengkuas merah sebagai antibakteri alternatif terhadap *S. Typhi*.



## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) bersifat antibakteri terhadap bakteri *S. Typhi* secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah bersifat antibakteri terhadap *S. Typhi*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dan pertumbuhan bakteri *S. Typhi*.

1.3.2.2 Menentukan nilai kadar hambat minimal (KHM) ekstrak etanol rimpang lengkuas merah terhadap *S. Typhi*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat digunakan sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya mengenai manfaat ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) sebagai antibakteri.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Sebagai terapi alternatif untuk penyakit demam tifoid dan menyediakan obat yang relatif murah dan mudah didapat masyarakat.

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Salmonella Typhi*2.1.1 Klasifikasi *S. Typhi*

Klasifikasi *S. Typhi* adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

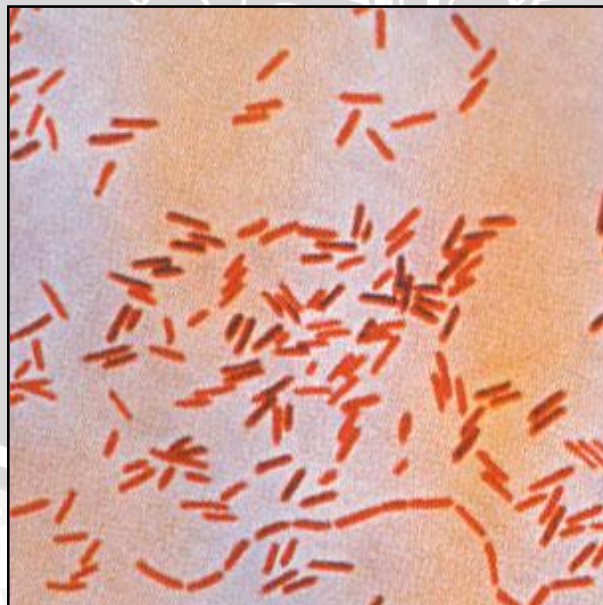
Class : *Gamma Proteobacteria*

Order : *Enterobacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Salmonella* (Todar, 2008)

Spesies : *Salmonella enterica* subspecies enteric serotype Typhi  
atau *Salmonella Typhi* (Brooks *et al*, 2008).



Gambar 2.1. *S. Typhi* (pewarnaan Gram, berbentuk batang Gram negatif) (Todar, 2008)



### 2.1.2 Morfologi dan Fisiologi *Salmonella* Typhi

*Salmonella* Typhi berbentuk batang dengan ukuran diameter 0,7-1,5  $\mu\text{m}$  dan panjang 2-5  $\mu\text{m}$  (Fox *et al*, 2006). Panjang *Salmonella* bervariasi. Sebagian besar isolat motil dengan flagel peritrika (*peritrichous flagella*) (Brooks *et al*, 2008). Bakteri ini bersifat gram negatif, berflagella, tidak berkapsul, tidak membentuk spora, fakultatif anaerob, memfermentasikan glukosa, mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan mensintesis flagella peritrikus dalam keadaan motil (Fox *et al*, 2006). *Salmonella* resisten terhadap bahan kimia tertentu (misal, hijau brilliant, natrium tetrasetat, natrium deoksikolat) yang menghambat bakteri enterik lain. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut berguna untuk inokulasi isolat *salmonella* dari feses pada medium (Brooks *et al*, 2008).

*Salmonella* digolongkan ke dalam bakteri gram negatif sebab *salmonella* adalah jenis bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat metal ungu pada pewarnaan gram dan semua gram negatif berwarna merah atau merah muda. Sifat patogen bakteri ini berkaitan dengan komponen pada dinding sel gram negatif terutama lapisan lipopolisakarida atau endotoksin (Ita, 2011).

### 2.1.3 Struktur Antigenik *Salmonella* Typhi

*Salmonella* Typhi memiliki antigen somatik O, flagella H, dan kapsular Vi (Bergeys *et al*, 1994). Antigen kapsular Vi peranannya kecil dalam klasifikasi, tetapi mempunyai kepentingan patogenesis. Antigen Vi dapat mencegah destruksi intraseluler di dalam sel hospes. Antigen ini jarang ditemukan pada serotipe *salmonella* yang lain (Dzen *et al*, 2010).

Antigen O dan H adalah antigen utama yang digunakan untuk penggolongan *salmonella*. Antigen O mirip dengan antigen O dari



Enterobacteriaceae yang lain, tetapi antigen H berbeda karena adanya mekanisme *diphase*. Antigen H dapat muncul sebagai salah satu atau dua dari fase antigenik mayor yaitu fase-1 yang merupakan fase yang spesifik atau fase-2 yang merupakan fase nonspesifik. Antigen H terdapat pada protein flagella. Hanya organisme yang berflagella yang memiliki antigen H. Antigen H fase-1 dimiliki oleh hanya beberapa organisme, dan bereaksi hanya dengan antisera homolog, sedangkan antigen H fase 2 dimiliki oleh banyak mikroorganisme dan bereaksi dengan antisera heterolog (Dzen *et al*, 2010). Antigen H pada *salmonella* adalah antigen yang spesifik, karena dapat berubah-ubah menjadi antigen H fase 1 atau fase 2. Organisme tersebut dapat menggunakan antigen ini untuk mengelabui respon imun (Parija, 2009).

Antigen O merupakan rantai samping dari unit-unit gula yang diproyeksikan dari lapisan terluar lipopolisakarida dinding sel bakteri (Parija, 2009). Antigen ini bersifat hidrofilik dan memungkinkan bakteri untuk membentuk suspensi yang stabil dan homogen pada larutan salin (Wray *et al*, 2000). Antigen O bersifat tahan panas, tidak terpengaruh oleh pemanasan pada suhu 100°C selama 2-5 jam, stabil dalam alkohol, pada perlakuan dengan 96% etanol pada suhu 37°C selama 4 jam (Parija, 2009).

#### 2.1.4. Patofisiologi

*S. Typhi* bersifat infeksius untuk manusia, dan infeksi oleh organisme tersebut didapatkan dari manusia. Namun, sebagian besar *Salmonella* bersifat patogen terutama bagi hewan yang menjadi reservoir untuk infeksi manusia, yaitu unggas, babi, hewan pengerat, hewan ternak, binatang piaraan

(dari kura-kura hingga burung kakaktua), dan banyak lainnya (Brooks *et al*, 2008).

Organisme ini hampir selalu masuk melalui rute oral, biasanya bersama makanan atau minuman yang terkontaminasi. Dosis inefektif rata-rata untuk menimbulkan infeksi klinis atau subklinis pada manusia adalah  $10^5$ - $10^8$  *Salmonella* (mungkin cukup dengan  $10^3$  organisme *S. Typhi*). Beberapa faktor pejamu yang menimbulkan resistansi terhadap infeksi *Salmonella* adalah keasaman lambung, flora mikroba usus, dan kekebalan usus setempat (Brooks *et al*, 2008).

Bakteri yang masuk sebagian akan dimusnahkan dalam lambung oleh asam lambung tetapi ada sebagian yang lolos menuju usus dan berkembang biak. Jika respon imun humoral mukosa usus (IgA ) kurang baik, maka bakteri ini akan menembus sel epitel (terutama sel M, dimana sel-M atau microfold cell merupakan epitel usus yang banyak mengandung limfosit, sedikit sel goblet, berbentuk kuboid serta memiliki lipatan-lipatan atau microfold dan bukan sel mikrovili) dan selanjutnya menuju lamina propria. Di lamina propria bakteri berkembang biak dan kemudian difagosit oleh makrofag. Didalam makrofag sendiri, bakteri terus berkembang biak dan menuju plak peyeri ileum distal, lalu menuju aliran kelenjar getah bening mesentrika, duktus torasikus dan kemudian masuk kedalam sirkulasi darah (bakterimia pertama bersifat asimtomatik) dan menyebar keseluruh organ retikuloendothelial tubuh (terutama hati dan limpa). Di organ-organ tersebut bakteri akan keluar dari makrofag dan berkembang biak diluar sel dan masuk ke sirkulasi darah (bakterimia kedua yang bersifat simtomatik). Didalam hati, bakteri masuk ke kandung empedu, berkembang biak, dan bersama cairan empedu di ekskresikan ke dalam lumen usus, sebagian



bakteri akan dikeluarkan melalui feses dan sebagian kembali menembus usus dan masuk sirkulasi darah. Kemudian terjadi pelepasan mediator inflamasi dan kemudian akan menimbulkan gejala reaksi inflamasi sistemik akibat makrofag yang hiperaktif. Selain menimbulkan gejala inflamasi sistemik, hipereaktif makrofag juga menyebabkan induksi reaksi hipersensitivitas tipe lambat, hiperplasia jaringan organ dan nekrosis organ. Perdarahan saluran cerna dapat terjadi karena adanya nekrosis dan hiperplasia akibat akumulasi sel-sel mononuclear di dinding usus. Proses patologis jaringan limfoid ini dapat berkembang hingga menembus lapisan mukosa dan otot dan dapat mengakibatkan perforasi (Widodo, 2009 )

#### **2.1.5 Manifestasi Klinis**

Minggu pertama infeksi, gejalanya adalah letargi, demam, malaise, dan nyeri tubuh. Konstipasi lebih sering terjadi daripada diare. Selama waktu ini, bakteri mengadakan penetrasi ke dalam dinding usus dan menginfeksi sistem limfatik. Sebagian lainnya akan masuk ke dalam peredaran darah dan menginfeksi sistem retikuloendotelial. Pada kedua tempat ini, bakteri akan dimakan oleh sel-sel monosit tetapi tidak terbunuh, bahkan masih bisa mengadakan multiplikasi di dalam sel monosit tersebut (Dzen *et al*, 2010).

Selama minggu kedua dari penyakitnya, bakteri masuk lagi ke dalam aliran darah, menyebabkan bakteremia yang kedua. Infeksi pada saluran empedu dan lain-lain terjadi pada waktu ini. Penderita tampak sakit berat dengan panas tinggi sampai 40°C. Diare dapat terjadi pada minggu kedua atau ketiga dari penyakitnya. Setelah minggu ketiga penderita tampak lelah dan masih panas tetapi menunjukkan adanya perbaikan apabila tidak mengalami komplikasi.



Komplikasi yang dapat terjadi berupa perforasi usus, perdarahan hebat, pneumonia, dan pembentukan abses. Angka kematian berkisar antara 2%-10%. Sekitar 20% penderita akan mengalami kekambuhan (Dzen *et al*, 2010).

## **2.1.6 Diagnosis Laboratorium**

### **2.1.6.1 Spesimen**

Darah untuk biakan harus diambil berulang kali. Pada demam enterik dan septisemia, biakan darah sering positif dalam minggu pertama penyakit. Biakan sumsum tulang dapat bermanfaat. Biakan urine dapat positif setelah minggu kedua. Spesimen feses juga harus diambil berulang-ulang. Pada demam enterik, feses akan memberikan hasil positif mulai minggu kedua atau ketiga; pada enterokolitis, selama minggu pertama. Biakan positif dari drainase duodenum menunjukkan adanya *Salmonella* di traktus billiar pada orang *carrier* (Brooks *et al*, 2008).

### **2.1.6.2 Metode Bakteriologi (untuk Isolasi)**

Biakan pada medium diferensial, medium EMB dan MacConkey memungkinkan deteksi cepat organisme yang tidak memfermentasikan laktosa. Medium BSA (*Bismuth Sulfite Agar*) memungkinkan deteksi cepat *Salmonella* yang membentuk koloni hitam (*Black Jet Colony*) karena produksi H<sub>2</sub>S (Brooks *et al*, 2008).

Biakan pada medium selektif, spesimen diinokulasi pada agar *Salmonella-Shigella* (SS), atau agar enterik Hektoen, atau XLD, atau agar deoksilat-sitrat, yang membantu pertumbuhan *Salmonella* dan *Shigella* melebihi *Enterobacteriaceae* lain (Brooks *et al*, 2008).

Identifikasi akhir, koloni yang dicurigai pada medium padat diidentifikasi dengan pola reaksi biokimia dan uji aglutinasi *slide* dengan serum spesifik (Brooks *et al*, 2008).

#### 2.1.6.3 Metode Serologi

Teknik serologi digunakan untuk mengidentifikasi biakan yang tidak diketahui dengan serum yang telah diketahui dan juga dapat digunakan untuk menentukan titer antibodi pada pasien yang tidak diketahui penyakitnya, walaupun penentuan titer antibodi ini tidak terlalu bermanfaat untuk diagnosis infeksi *Salmonella* (Brooks *et al*, 2008).

Uji aglutinasi, serum yang telah diketahui dan biakan yang tidak diketahui dicampur diatas *slide*. Bila terjadi gumpalan, dapat dilihat dalam beberapa menit. Pemeriksaan ini terutama berguna untuk identifikasi preliminer biakan dengan cepat. Terdapat alat-alat untuk mengaglutinasi dan menentukan serogrup *Salmonella* melalui antigen O-nya: A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, D, dan E, yang dijual bebas di pasaran (Brooks *et al*, 2008).

Uji aglutinasi pengenceran tabung atau tes widal. Aglutinin serum meningkat tajam selama minggu kedua dan ketiga pada infeksi *Salmonella*. Sedikitnya dua spesimen serum, yang diambil dengan selang waktu 7-10 hari, dibutuhkan untuk membuktikan adanya kenaikan titer antibodi. Pengenceran serial (dua kali lipat) dari serum yang tidak diketahui diuji terhadap antigen *Salmonella*. Interpretasi hasilnya adalah sebagai berikut: (1) Titer O yang tinggi atau meningkat ( $\geq 1:160$ ) menandakan adanya infeksi aktif. (2) Titer H yang tinggi ( $\geq 1:160$ ) menunjukkan riwayat imunisasi atau infeksi masa lampau. (3) Titer antibodi yang tinggi terhadap antigen Vi yang timbul pada beberapa *carrier*. Hasil pemeriksaan serologi pada infeksi *Salmonella* harus diinterpretasikan

dengan hati-hati. Kemungkinan adanya antibodi yang bereaksi silang, membatasi penggunaan serologi dalam diagnosis infeksi *Salmonella* (Brooks *et al*, 2008).

### 2.2.7 Pengobatan

Terapi antimikroba untuk infeksi *salmonella* yang invasif adalah dengan menggunakan ampicilin, trimetoprim-sulfametoksazol, atau sevalosporin generasi ke-3 (Brooks *et al*, 2008). Selain itu, kloramfenikol juga merupakan obat pilihan untuk demam tifoid. Kloramfenikol diberikan secara per oral atau secara IV 25mg/kg sampai 14-21 hari (Fauci *et al*, 2008). Pada saat ini mulai muncul strain yang muncul terhadap kloramfenikol, ampicilin, dan trimetropim-sulfametoksazol atau dikenal sebagai MDR (Dzen *et al*, 2010). Pengobatan pilihan untuk MDR diantaranya adalah ciprofloxacin, ceftriaxon, dan azitromycin (Fauci *et al*, 2008). Beberapa penderita karier kronik dapat diobati hanya dengan menggunakan ampicilin, tetapi pada beberapa kasus kolesistektomi harus dikombinasikan dengan terapi obat (Brooks *et al*, 2008).



## 2.2 Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

### 2.2.1 Taksonomi Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)

Adapun sistematika penamaan (taksonomi) dari tanaman lengkuas merah adalah sebagai berikut (Wagner *et al*, 1990):

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
- Sub Kelas : Zingiberidae
- Ordo : Zingiberales
- Famili : Zingiberaceae – ginger famili
- Genus : *Alpinia* Roxb
- Spesies : *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum



Gambar 2.2 Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)  
(Seidemann, 2005)

### 2.2.2 Morfologi dan Persebaran

Di Indonesia lengkuas memiliki nama yang beraneka ragam sesuai dengan daerah tempat tumbuhnya. Di Sumatra dikenal dengan nama lengkueueh, kelawasn dan lawas. Di Jawa dikenal dengan nama laja dan laos. Sementara itu, di Kalimantan dikenal dengan nama lengkuas dan di Sulawesi diebut lengkuasa, aliku serta lingkui (Winarto, 2003).

Lengkuas merupakan tanaman berbatang semu yang tingginya bisa mencapai 2 meter dan batang muda sebagai tunas dari pangkal batang tua (Winarto, 2003). Daun lengkuas merah berbentuk lonjong dengan panjang 30-70 cm dan lebar 10-22 cm licin dengan apex pendek ujung meruncing. Bunganya terletak pada ujung tunas daun dengan silinder 15-30 cm biasanya tumbuh memanjang sesuai dengan usia tumbuhan lengkuas. Benang sari berukuran 6-7 mm. Ovarium memanjang berukuran 3-4 mm, tidak berbulu. Buah-buahan berbentuk kapsul hampir bulat dengan diameter 2-3cm. Rimpangnya ada yang berwarna merah dan ada juga yang berwarna merah muda (Wagner *et al*, 1990).

Herbal ini bisa tumbuh di daerah tropis dan subtropis dengan ketinggian mencapai 1.200 dpl. Tanaman lengkuas dapat tumbuh baik di daerah terbuka dengan sedikit naungan. Tanaman ini akan tumbuh subur di tanah berstruktur gembur dan banyak mengandung bahan organik. Tanaman lengkuas bisa diperbanyak dengan menggunakan potongan rimpang (Winarto, 2003).

### 2.2.3 Kandungan Kimia dan Kegunaan Rimpang Lengkuas Merah

Bagian tanaman dari lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) yang sering digunakan adalah rimpang. Rimpang lengkuas merah mengandung minyak atsiri yang terdiri dari metilsinamat, sineol, kamfer,  $\delta$ -pinen, galangin, dan eugenol. Rimpang lengkuas juga mengandung kamfor, galangol, seskuiterpen dan kristal



kuning (Hembing, 2001). Selain itu, rimpang lengkuas merah mengandung senyawa flavonoid, kaempferol-3-rutinoside dan kaempferol-3-oliucronide (Victorio *et al*, 2009). Rimpang lengkuas merah dapat digunakan untuk mengobati masuk angin, diare, gangguan perut, penyakit kulit, radang telinga, bronkhitis, dan pereda kejang (Soenanto dan Sri, 2009). Di samping itu kulit batangnya mengandung saponin, tanin, flavonoid (Permadi, 2008).

### 2.2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar di alam, terdapat pada semua tumbuhan hijau, termasuk pada ekstrak temu-temuan yang banyak dikonsumsi masyarakat sebagai obat tradisional (Suradikusumah, 1989). Flavonoid telah dikenal luas memiliki aktivitas sebagai senyawa antioksidan, antipigmentasi, dan antimikroba yang potensi (Sulistyo dan Soeka, 1999). Menurut Dwidjoseputro, flavonoid merupakan senyawa fenol sementara senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein. Penelitian secara *In vitro* maupun *in vivo* menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam (Sabir, 2005), salah satu diantaranya yakni memiliki aktivitas antibakteri (Mirzoeva, 1997). Senyawa flavonoid di duga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri (Pelczar, 1998). Senyawa flavonoid bisa diekstraksi menggunakan pelarut etanol (Sabir, 2005).

### 2.2.3.2 Minyak Atsiri

Rimpang lengkuas merah mengandung minyak atsiri yang terdiri dari metilsinamat, sineol, kamfer,  $\delta$ -pinen, galangin, dan eugenol. Rimpang lengkuas juga mengandung kamfor, galangol, seskuiterpen dan kristal kuning (Hembing, 2001). Minyak atsiri atau yang disebut juga dengan *essential oils*, *etherial oils* (minyak eteris), atau *volatile oils* (minyak yang mudah menguap) adalah salah



satu komoditi yang memiliki potensi besar di Indonesia (Wulandari, 2009). Minyak atsiri adalah ekstrak alami dari jenis tumbuhan tertentu, baik berasal dari daun, bunga, kayu, biji-bijian bahkan putik bunga. Kegunaan minyak atsiri sangat banyak, tergantung dari jenis tumbuhan yang diambil hasil sulungnya dan dapat digunakan sebagai antiseptik internal, obat anti nyeri, sedative, dan stimulan (Wulandari, 2009). Minyak atsiri dapat diekstraksi menggunakan pelarut etanol (Hertiani, 2002).

Minyakatsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen (Farida *et al*, 2007). Telah dilaporkan bahwa minyak atsiri (*volatile oil*) yang diisolasi dari rimpang lengkuas merah mempunyai efek anti mikroba (yuharmen *et al*, 2011). Sebagai senyawa sequesterpenoid, mekanisme antibakteri minyak atsiri (*volatile oil*) diperkirakan melalui proses destruksi membran sel bakteri oleh komponen lipofiliknya (Cowan, 1999). Selain itu minyak atsiri juga bekerja dengan cara mengganggu proses terbentuknya dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004).

### 2.2.3.3 Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa alami yang dikenal aman untuk digunakan. Misalnya carvone, yang bersifat antibakteri dan antifungal, telah digunakan berabad-abad dalam ekstrak minyak biji, jauh sebelum mekanismenya diteliti. Senyawa terpenoid bisa diekstraksi menggunakan pelarut etanol (Arifin *et al*, 2006). Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan golongan terpenoid pada lengkuas merah adalah terpenoid alkohol (Rosyidah, 2009). Senyawa terpenoid

menekan aktivitas bakteri dan sekaligus merusak membran sel bakteri (Togashi, *et al* 2008).

#### **2.2.4 Ekstraksi Senyawa Aktif Bahan Alam**

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat aktif dari bagian tumbuhan, hewan dan beberapa jenis biota laut. Zat-zat aktif terdapat didalam sel namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula dengan ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut. Untuk mengekstraksi senyawa kimia yang ada dalam tumbuhan terlebih dahulu bahan dikeringkan kemudian dihaluskan dengan derajat halus tertentu lalu diekstraksi dengan pelarut yang sesuai. Untuk mendapatkan sari yang kental dapat dilakukan dengan menguapkan hasil ekstraksi dengan bantuan *rotary evaporator*. Pelarut untuk ekstraksi terdiri atas, pelarut non polar, seperti N-heksan, diklorometan, kloroform, benzena, dietil eter. Pelarut polar seperti air, metanol, etanol. Dan terdapat pelarut semipolar seperti aseton, etil asetat, dan lain-lain (Ansel, 2008).

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara panas dengan cara refluks, sokletasi, digesti, infus, dekok dan ekstraksi secara dingin dengan cara maserasi dan perkolasi. (Hamdani, 2011)

#### **2.2.5 Mekanisme Penghambatan Mikroorganisme oleh Antimikroba**

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba anatara lain disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: (Kunaepah, 2008)



a. Mengganggu pembentukan dinding sel

Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen limfofilat yang terdapat pada dinding atau membrane sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Efek penghambatan senyawa antibakteri lebih efektif terhadap bakteri gram positif daripada bakteri gram negative. Hal ini disebabkan perbedaan komponen penyusun dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut.

b. Bereaksi dengan membran sel

Mengganggu dan mempengaruhi integritas membrane sitoplasma sehingga mengakibatkan kebocoran materi intraseluler.

c. Menginaktivasi enzim

Mekanisme yang terjadi menunjukkan kerja enzim terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba, sehingga mengakibatkan enzim akan memerlukan energy dalam jumlah besar untuk aktivitasnya. Akibatnya energy untuk pertumbuhan menjadi berkurang, sehingga aktivitas mikroba menjadi terhambat dan inaktif apabila berlangsung lama.

d. Menginaktivasi fungsi material genetic

Merusak materi genetic sehingga mengganggu proses pembelahan sel untuk pembiakan.

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswarna, 1995).



## 2.2.6 Uji Sensitivitas Bakteri terhadap Antimikroba

### 2.2.6.1 Metode Dilusi

#### 2.2.6.1.1 Metode Dilusi Tabung

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari obat anti mikroba. Menggunakan bakteri dengan konsentrasi  $10^6$  CFU/ml. Prinsipnya dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Ada satu tabung yang hanya diisi bahan aktif tanpa bakteri sebagai kontrol negatif dan ada pula satu tabung yang hanya diisi oleh bakteri biakan sebagai kontrol positif. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM obat. KHM ini adalah kemampuan dari agen antimikroba yang menghambat multiplikasi bakteri uji (sebagai bakteriostatik). Untuk mengukur kemampuan antimikroba membunuh mikroorganisme perlu dilakukan tes aktivitas bakterisidal dengan menggunakan modifikasi dari tes dilusi tabung. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya (18-24 jam) diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan atau adanya pertumbuhan  $< 0,1\%$  inokulum original disebut Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari bahan antimikroba (Dzen *et al*, 2010).

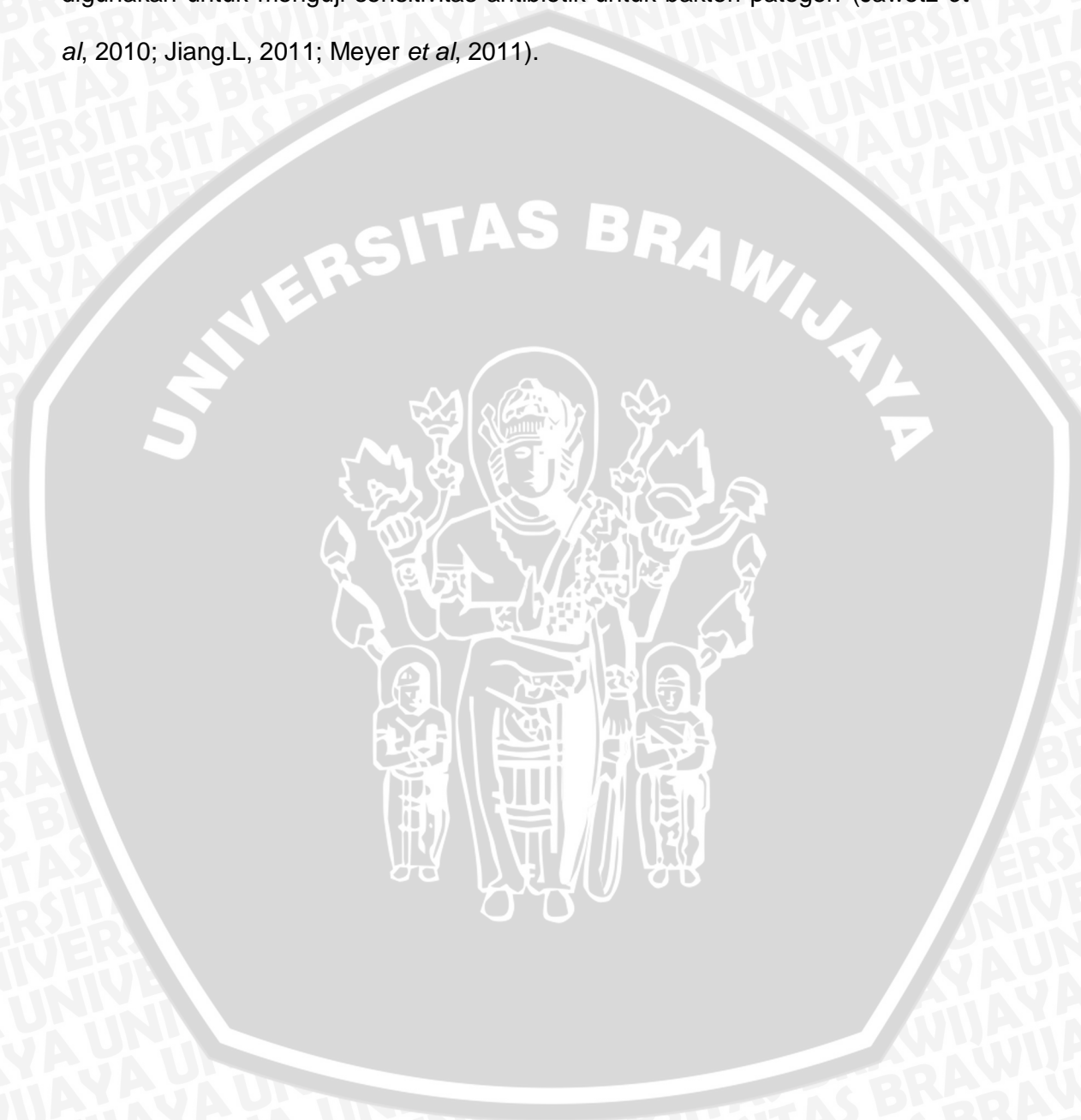
#### 2.2.6.1.2 Metode Dilusi Agar

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan metode dilusi agar (*Agar Dilution test*). Metode dilusi agar, larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial dicampurkan ke dalam medium agar yang masih cair (tetapi tidak terlalu panas) kemudian agar dibiarkan memadat, dan selanjutnya diinokulasikan dengan bakteri. Dibutuhkan satu cawan untuk kontrol positif tanpa antimikroba. Dengan metode ini, satu atau lebih bakteri terisolasi yang tercampur per cawan (Parija, 2009). Pada dilusi agar, zat antibakteri diletakkan dalam medium agar lalu teteskan bakteri yang akan diuji dengan konsentrasi  $10^4$  CFU/ spot (CLSI, 2006). Pada metode dilusi agar, diperlukan larutan antimikroba dengan kadar menurun yang dibuat menggunakan teknik pengenceran serial. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, cawan diamati serta dihitung pertumbuhan bakteri (parija, 2009).

#### 2.2.6.2 Metode Difusi

Metode yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Dalam metode ini, inokulum bakteri yang akan diuji disesuaikan dengan konsentrasi tertentu, diinokulasikan ke seluruh permukaan agar padat seperti *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan kapas steril. Bahan uji dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung bahan tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri tersebut, kemudian diinkubasikan  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Diameter zona jernih inhibisi disekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu. Selama inkubasi, bahan uji berdifusi dari kertas saring ke dalam agar-agar itu, sebuah

zona inhibisi dengan demikian akan terbentuk. Diameter zona sebanding dengan jumlah bahan uji yang ditambahkan ke kertas saring. Metode ini secara rutin digunakan untuk menguji sensitivitas antibiotik untuk bakteri patogen (Jawetz *et al*, 2010; Jiang.L, 2011; Meyer *et al*, 2011).

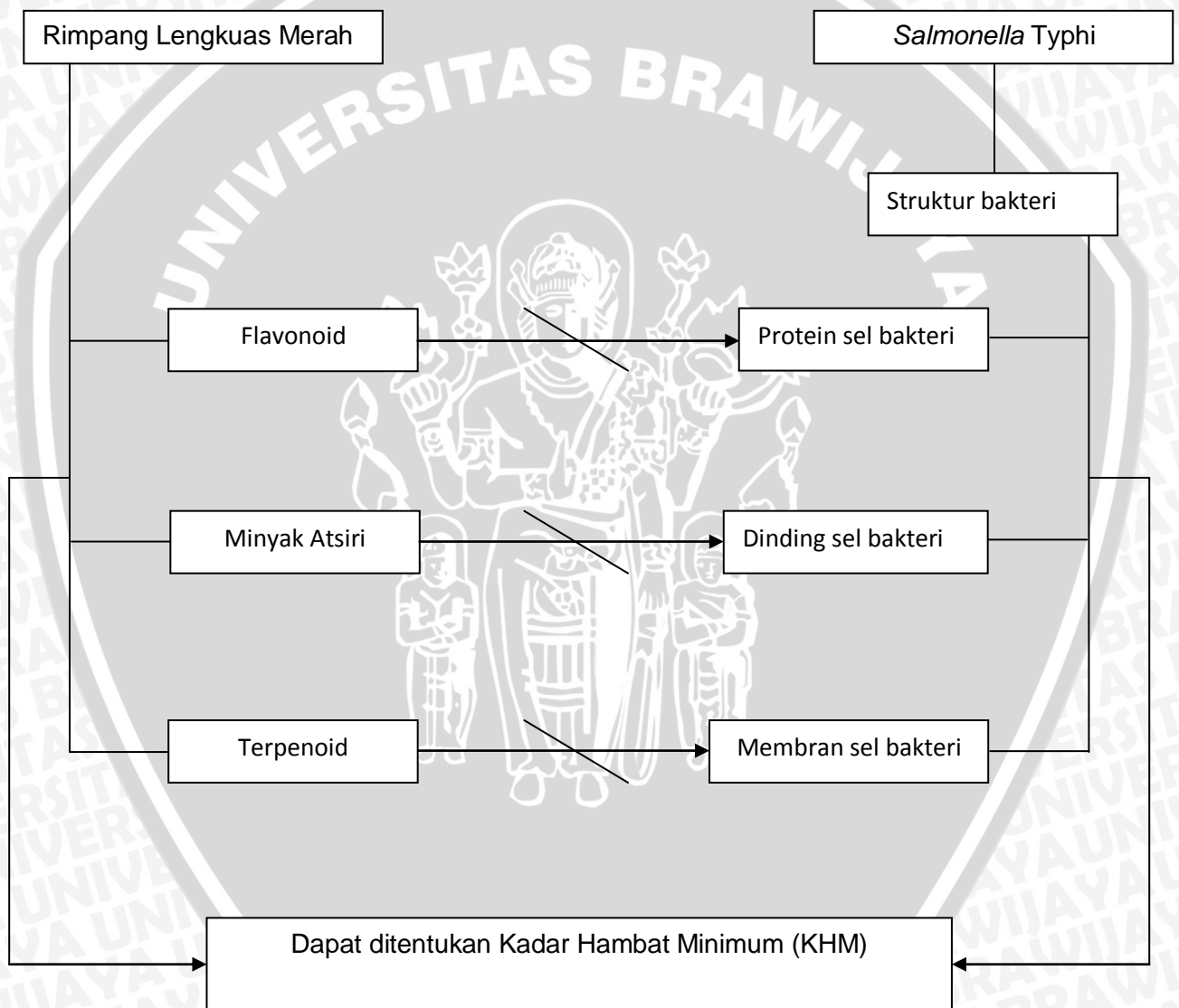




## BAB 3

### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan : =  menghambat / merusak

### 3.1 Keterangan Skema Kerangka Konsep Penelitian

Bagian tanaman dari lengkuas merah *Alpinia purpurata* yang sering digunakan adalah rimpang. Rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) diketahui mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri (Yuharmen, 2002). Selain itu, rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* mengandung senyawa flavonoid, kaempferol-3-rutinoside dan kaempferol-3-oliucronide (Victorio *et al*, 2009). Rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* dapat digunakan untuk mengobati masuk angin, diare, gangguan perut, penyakit kulit, radang telinga, bronkhitis, dan pereda kejang (Soenanto dan Sri, 2009).

Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri (Pelczar, 1998). Mekanisme penghambatan antibakteri polifenol antara lain adalah dengan cara mengganggu pembentukan dinding sel dan bereaksi dengan membrane sel. Komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Kunaepah, 2008).

Minyak atsiri bekerja dengan cara mengganggu proses terbentuknya dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004).

Senyawa terpenoid menekan aktivitas bakteri dan sekaligus merusak membran sel bakteri (Togashi, *et al* 2008).

Dari fungsi yang didapatkan dalam kandungan rimpang lengkuas merah terhadap bakteri *S. Typhi*, maka dapat disimpulkan bahwa rimpang lengkuas merah mampu menghambat pertumbuhan *S. Typhi*.

### 3.2. Hipotesis Penelitian

Ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. Typhi* secara *in-vitro*.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *experimental laboratorik* dengan metode dilusi agar untuk menguji efek ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) sebagai anti bakteri terhadap *Salmonella* Typhi secara *in vitro* untuk mengetahui KHM.

Kelompok kontrol dari penelitian ini adalah *S. Typhi* yang tidak diberi larutan ekstrak rimpang lengkuas merah (konsentrasi 0%). Kelompok perlakuan adalah isolat *Salmonella typhi* yang diberi larutan ekstrak rimpang lengkuas merah dengan berbagai kosentrasi.

#### 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang yang dilakukan pada bulan September sampai bulan Desember 2013. Bahan Rimpang Lengkuas Merah diperoleh di Materia Medika Kota Batu. Tempat ekstraksi di Polinema Negeri Malang.

#### 4.3 Sampel Penelitian dan Pengulangan

Sampel penelitian yang digunakan di penelitian ini adalah satu isolat bakteri *Salmonella* Typhi yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

Banyaknya sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$p(n-1) \geq 15$$

$$7(n-1) \geq 15$$

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14 \approx n = 4 \text{ (Ariyani et al., 2007)}$$

Keterangan :

n = Jumlah Sampel

p = Jumlah Perlakuan (konsentrasi)

Jadi, pada masing-masing perlakuan dalam penelitian ini akan dilakukan 4 kali pengulangan dengan menggunakan 1 isolat *S. Typhi*. Jumlah sampel bakteri uji adalah  $10^6$ CFU/ml bakteri *S. Typhi*.

#### 4.4 Variabel Penelitian

##### 4.4.1 Variabel Bebas (*Dependent Variable*)

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak rimpang lengkuas merah dengan konsentrasi 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%  $\forall$ . Konsentrasi tersebut berdasarkan eksplorasi awal atau penelitian pendahuluan.

##### 4.4.2 Variabel Tergantung (*Independent Variable*)

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* pada media agar padat untuk menentukan KHM.

#### 4.5 Definisi Operasional

a) Rimpang lengkuas merah yang diperoleh pada saat penelitian ini dari Balai

Materia Medica, Batu, Jawa timur dalam bentuk serbuk kering.

- b) Ekstrak rimpang lengkuas merah adalah ekstrak cair dari rimpang lengkuas merah yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% melalui proses maserasi dan evaporasi untuk menghilangkan pelarut etanol.
- c) Hasil penelitian dinyatakan dalam bentuk scoring, yaitu +4, +3, +2, +1, 0.

Keterangan :

- +4 koloni bakteri tumbuh sangat tebal, koloni tidak dapat dihitung, diameter koloni sangat lebar,
- +3 koloni bakteri tumbuh tebal, koloni tidak dapat dihitung, diameter koloni lebar,
- +2 koloni bakteri tumbuh tipis, koloni tidak dapat dihitung, bakteri tumbuh sempit/kecil,
- +1 koloni bakteri tumbuh sangat tipis, koloni tidak dapat dihitung, bakteri tumbuh sangat sempit/kecil,
- 0 berarti bakteri tidak ada atau mati

#### 4.6 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lengkuas merah yang berupa serbuk, ethanol 96%, biakan murni *Salmonella typhi*, medium padat agar Mac Konkey, medium Salmonella-Shigella, Nutrient Broth, mueller Hinton Agar, Aquades steril, bahan pewarnaan gram berupa kristal violet, lugol alkohol 96%, safranin. Untuk proses penelitian dibutuhkan alat seperti pisau, blender, timbangan analitik, kertas saring, alat inkubasi, *evaporator set*, mikroskop, obyek glass, kapas lidi, vortex, *colony counter*, tabel NCCLS, pipet ukur, ose, bunsen, *beaker glass*.



## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Proses Ekstraksi

- a) Rimpang lengkuas merah dipanaskan sampai kering dibawah sinar matahari. Kemudian rimpang lengkuas merah tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender
- b) Rimpang lengkuas merah yang halus ditimbang 200gr lalu dibungkus menggunakan kertas saring dan direndam dalam ethanol 96% selama semalam ( $\pm 12$  jam).
- c) Ganti ethanol 96% yang digunakan untuk merendam beberapa kali sampai air ekstrak jernih. Kemudian hasil ekstraksi dievaporasi.

### 4.7.2 Proses Evaporasi

- a) Pasang Evaporator set pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30-40 derajat terhadap meja dengan susunan dari bawah ke atas alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator* dan tabung pendingin
- b) Hubungkan tabung pendingin dengan pompa sirkulasi air dingin yang terhubung dengan bak penampung air dingin melalui pipa plastik.
- c) Tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan penampung hasil penguapan
- d) Masukkan hasil ekstraksi dalam labu penampung sedangkan *rotary evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum dinyalakan.
- e) Nyalakan pemanas aquadest sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi mendidih sampai dengan suhu  $80^{\circ}\text{C}$  (sesuai titik didih ethanol) dan ethanol mulai menguap.

- f) Hasil penguapan ethanol dikondensasikan menuju labu penampung ethanol sehingga tidak tercampur hasil evaporasi dan uap lain tersedot pompa vakum.
- g) Lakukan proses evaporasi sampai volume hasil ekstraksi berkurang dan menjadi kental.
- h) Hentikan proses evaporasi jika volume hasil ekstraksi berkurang dan sudah menjadi kental lalu ambil hasil proses evaporasi.
- i) Tampung hasil evaporasi ke dalam cawan penguap kemudian dimasukan kedalam oven selama 2 jam pada suhu 80°C untuk menguapkan pelarut yang tersisa sehingga didapatkan hasil ekstrak 100%.

#### **4.7.3 Identifikasi Bakteri Uji *Salmonella Typhi***

##### **4.7.3.1 Inokulasi Pada Agar MacKonkey**

- a) Menanam spesimen pada *nutrient broth*
- b) Spesimen diinkubasikan semalam pada suhu 37°C
- c) Biakan yang telah ditanam pada selenite broth kemudian ditanam dalam agar MacKonkey untuk mendapatkan koloni yang terpisah.
- d) Biakan di inkubasi semalaman pada suhu 37°C
- e) Biakan akan terlihat tidak berwarna karena *Salmonella typhi* tidak memfermentasikan laktosa (Murray *et al.*, 2005).

##### **4.7.3.2 Pewarnaan Gram**

- a) Membuat sediaan hapusan bakteri pada glas obyek
- b) Menuangi sediaan dengan kristal violet lalu biarkan selama 1 menit, kemudian sisa kristal violet dibuang lalu bilas dengan air
- c) Menuangi sediaan dengan lugol lalu biarkan selama 1 menit, kemudian sisa lugol dibuang lalu bilas dengan air

- d) Menuangi sediaan dengan alkohol 96% selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur lalu buang sisa alkohol dan bilas dengan air
- e) Menuangi sediaan dengan safranin selama 0,5 menit lalu buang sisa safranin dan bilas dengan air
- f) Mengeringkan dengan kertas penghisap
- g) Meletakan di mikroskop lalu berikan minyak emersi agar lebih jelas
- h) Melihat dengan perbesaran lensa obyektif 100 kali
- i) Bakteri *S. Typhi* berbentuk batang berwarna merah karena termasuk bakteri Gram Negatif.

#### 4.7.3.3 Penanaman pada BSA (Bismuth Sulfit Agar)

Penanaman bakteri pada *Bismuth Sulfite Agar* (BSA) merupakan media selektif terhadap pertumbuhan *S. Typhi*. Penanaman bakteri pada media tersebut didapatkan gambaran *Black Jet Colony* (terbentuknya koloni hitam) yang merupakan gambaran khas dari *S. Typhi* (Vaishnavi, 2013). Prosedur Identifikasi bakteri pada medium BSA :

1. Dilakukan inokulasi pada bakteri *S. Typhi* dengan metode streaking pada medium *Bismuth Sulfit Agar* (BSA).
2. Sediaan di inkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati hasilnya.
3. Koloni bakteri *S. Typhi* pada medium BSA menghasilkan gambaran *Black Jet Colony*.

#### 4.7.3.4 Tes Microbact

*Kit Microbact* mencakup miniatur tes biokimia 12 )12A, 12B, dan 12E) atau 24 (24E). Tes *Kit Microbact* bakteri gram negatif dengan hasil tes oksidase negatif digunakan set 12A (dengan strip) atau 12E (dengan *microplate*). Bakteri



gram negatif dengan hasil tes oksidase positif menggunakan set 12B yang dilengkapi dengan set 12A. Prosedur tes *Kit Microbact* antara lain (oxoid, 2003) :

1. Menentukan hasil tes oksidase bakteri yang akan diuji untuk menentukan set *microbact* yang akan digunakan.
2. Satu koloni bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan kedalam 3-6ml garam fisiologis pada tabung reaksi steril hingga homogen.
3. Buka penutup lubang *microplate*. Masukan  $\pm 4$  tetes suspensi bakteri ke dalam masing-masing lubang plate.
4. Masukan  $\pm 2$  tetes *mineral oil* (MB1093A) ke dalam lubang plat hitam.
5. Tutup kembali semua lubang plate, kemudian inkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
6. Keluarkan *microplate* dari inkubator, kemudian tambahkan reagen yang diperlukan.
7. Hasil tes *microbact* dapat diinterpretasikan menggunakan program tertentu yang telah disertakan dalam paket *microbact*.

#### 4.7.4 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan $10^6$ Bakteri/mL

- a. Ambil koloni *S. Typhi* dengan karakteristik sama dari media *Nutrient Agar Plate* dengan menggunakan ose.
- b. Masukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *Nutrient broth*, kemudian lakukan spektrofotometri pada tabung reaksi tersebut dengan panjang gelombang 625nm, untuk mengetahui *optical density* (OD) dari suspensi tersebut.

- c. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar  $10^8/\text{mL}$  yang setara dengan OD (*Optical Density*) = 0,1 (Murray *et al*, 1999), lakukan penghitungan sebagai berikut:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan :

$N_1$  = Hasil Spektrofotometri

$V_1$  = Volume bakteri yang akan ditambah dengan pengencer

$N_2$  = OD (0,1 setara dengan  $10^8$ )

$V_2$  = Volume suspensi bakteri uji (10 mL)

- d. Sehingga diperoleh volume (mL) bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi  $10^8/\text{mL}$  sebanyak 10 mL.
- e. Setelah diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi  $10^8/\text{mL}$  sebanyak 10mL, dilakukan pengenceran sebanyak 100 kali dengan menggunakan NaCl dan nutrient broth, sehingga konsentrasi bakteri menjadi  $10^6/\text{mL}$ . kini bakteri telah siap digunakan untuk penelitian.

#### 4.8 Uji Antibakteri Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah

- a. Sediakan *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah disterilisasi dengan menggunakan autoklaf terlebih dahulu, larutan ekstrak rimpang lengkuas merah dan 1 suspensi bakteri uji.
- b. Siapkan 7 *agar plate* steril berdiameter 9 cm, beri tanda 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, dan 0,6%  $\%v/v$ .
- c. Volume total dari *agar plate* diasumsikan sebesar 15ml.
- d. Campurkan 14,985 ml MHA dan 0,015 ml ekstrak rimpang lengkuas merah dalam *agar plate* yang bertanda 0,1%.
- e. Campurkan 14,97 ml MHA dan 0,03 ml ekstrak rimpang lengkuas merah ke dalam *agar plate* yang bertanda 0,2%.

- f. Campurkan 14,955 ml MHA dan 0,045 ml ekstrak rimpang lengkuas merah ke dalam *agar plate* yang bertanda 0,3%.
- g. Campurkan 14,94 ml MHA dan 0,06 ml ekstrak rimpang lengkuas merah ke dalam *agar plate* yang bertanda 0,4%.
- h. Campurkan 14,925 ml MHA dan 0,075 ml ekstrak rimpang lengkuas merah ke dalam *agar plate* yang bertanda 0,5%.
- i. Campurkan 14,91 ml MHA dan 0,09 ml ekstrak rimpang lengkuas merah ke dalam *agar plate* yang bertanda 0,6%.
- j. Tuangkan 15 ml MHA kedalam *agar plate* yang bertanda 0% (Kontrol Bakteri)
- k. Tunggu hingga agar memadat dan permukaannya menjadi kering.
- l. Setelah agar memadat, setiap *plate* tersebut dibagi menjadi 4 bagian untuk masing – masing pengulangan karena dalam penelitian ini menggunakan 4 pengulangan bakteri *S. Typhi*.
- m. Ambil suspensi bakteri *S. Typhi* hasil standardisasi spektrofotometer yang telah diencerkan sehingga memiliki konsentrasi akhir  $10^6$  CFU/ml. Teteskan diatas agar 1 tetes bakteri dengan menggunakan mikropipet. Volume 1 tetes mikropipet setara dengan 10 $\mu$ l suspensi bakteri yang mengandung  $10^4$  CFU/10  $\mu$ l kedalam setiap media agar.
- n. Sekarang, konsentrasi bahan uji dalam masing-masing dalam *agar plate* adalah sebagai berikut: *Agar plate* 1-6 menjadi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%  $\frac{v}{v}$ , dan 0% (Kontrol Bakteri) dengan volume dalam masing-masing *agar plate* sekarang menjadi 15 ml.
- o. Setelah itu, inkubasi semua *plate* pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

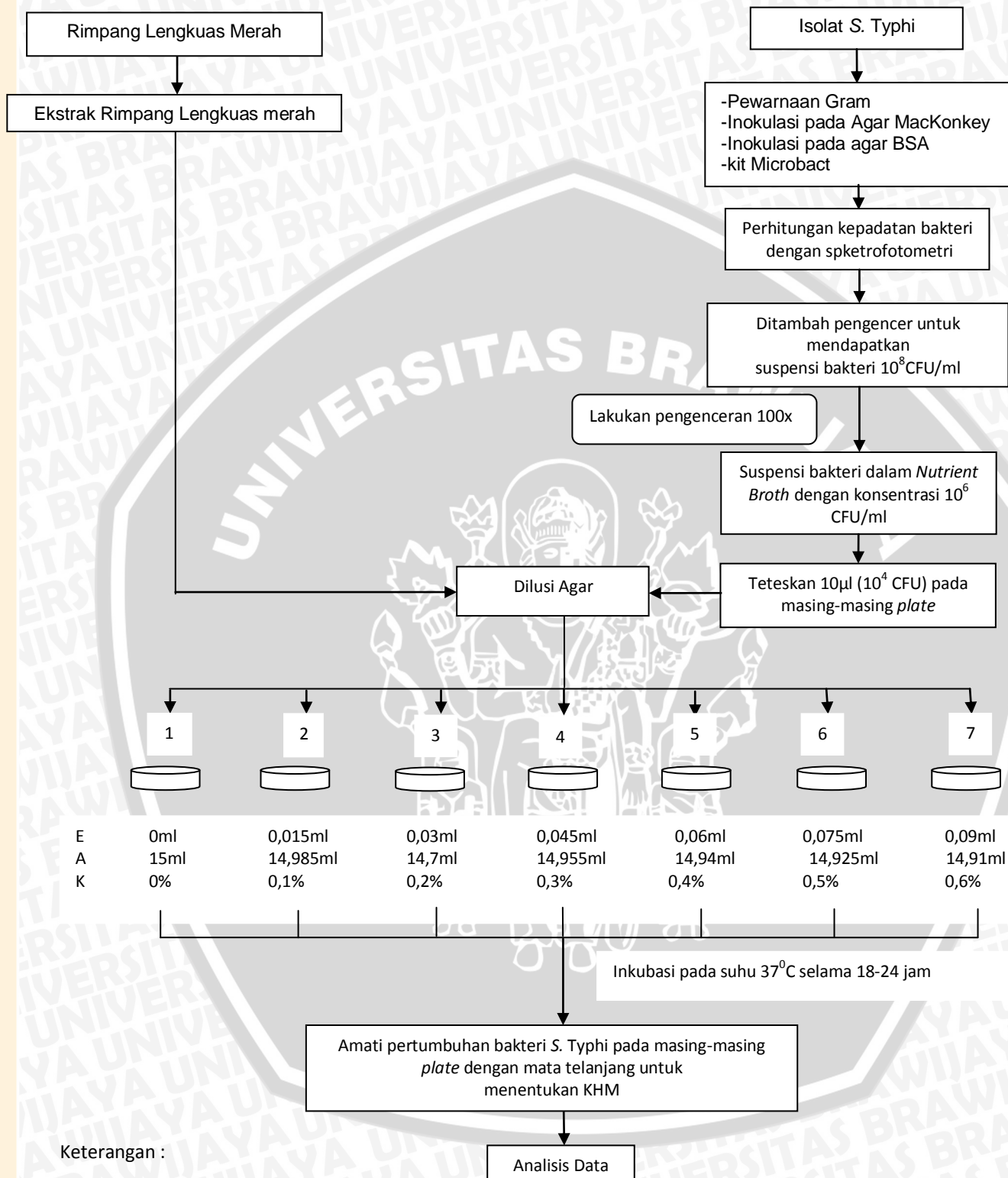


- p. Setelah 18-24 jam lihat pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* yang tumbuh pada masing-masing *plate*. Konsentrasi terendah ekstrak yang tidak ditemukan pertumbuhan koloni disebut sebagai KHM. (CLSI, 2006)

#### 4.9 Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah uji statistik nonparametrik dikarenakan data hasil penelitian berupa data ordinal, sehingga uji statistik parametrik tidak dapat digunakan. Uji statistik nonparametrik yang digunakan diantaranya ialah uji statistik Kruskal Wallis untuk mengetahui perbedaan pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. Typhi* sehingga dapat disimpulkan apakah ekstrak rimpang lengkuas merah mempunyai pengaruh antibakteri yang signifikan terhadap bakteri *S. Typhi*. Selain itu dilakukan uji Mann Whitney untuk membandingkan perlakuan mana saja yang menyebabkan pertumbuhan bakteri *S. Typhi* cenderung berbeda secara signifikan atau tidak berbeda, serta uji korelasi Spearman untuk mengetahui besarnya keeratan hubungan pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi*. Dalam penelitian ini, analisis statistik dilakukan pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ )

Secara sistematis, alur kerja dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian

## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Hasil Penelitian

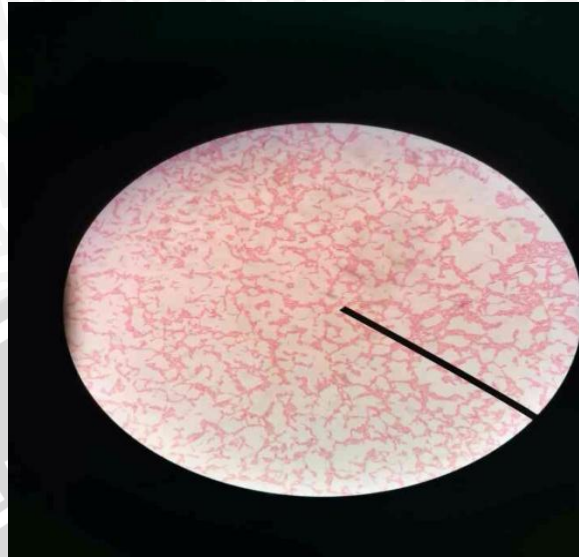
## 5.1.1 Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah

Rimpang lengkuas merah yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Balai materia medika Batu. Rimpang lengkuas merah berupa bubuk berwarna coklat yang sudah dikeringkan. Bubuk tersebut sebanyak 200 gram kemudian dibuat ekstrak di Polinema dengan metode maserasi dengan menggunakan etanol 96%. Hasil ekstrak berupa cairan keruh merah keunguan sebanyak 100 ml.

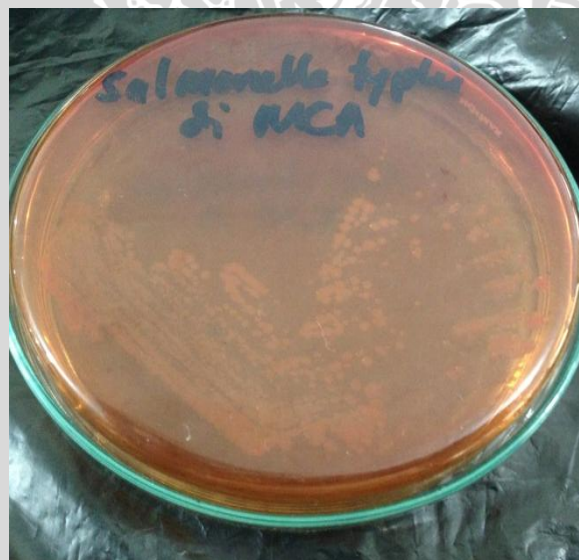
5.1.2 Identifikasi Bakteri *Salmonella Typhi*

Isolat bakteri *S. Typhi* yang didapatkan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Kesehatan Yogyakarta, dengan 1 isolat yang berasal *S. Typhi* yang berasal dari Yogyakarta. Sebelum digunakan untuk penelitian bakteri- bakteri tersebut telah diidentifikasi ulang dengan pengecatan Gram Neaktif, penanaman bakteri MacConkey, BSA dan *Kit Microbact*. Dari identifikasi pengecatan Gram dan pengamatan dibawah mikroskop obyektif dengan pembesaran 100X, didapatkan gambaran sel berbentuk batang dan berwarna merah (Gram Negatif). Pada penanaman bakteri yang menggunakan medium MacConkey koloni bakteri terlihat tidak berwarna karena *S. Typhi* tidak memfermentasikan laktosa. Pada penanaman bakteri yang menggunakan medium BSA (*Bismuth Sulfite Agar*) memberikan karakteristik koloni yang khas, yaitu berwarna hitam atau yang biasa disebut *Black Jet Colony*. Sedangkan pada identifikasi *Kit Microbact 12A* didapatkan hasil ketepatan atau akurasi bakteri *S. Typhi* 99,75%.





**Gambar 5.1** Gambaran Mikroskopik Bakteri *S. Typhi* (perbesaran 100x, berbentuk batang, Gram negatif).



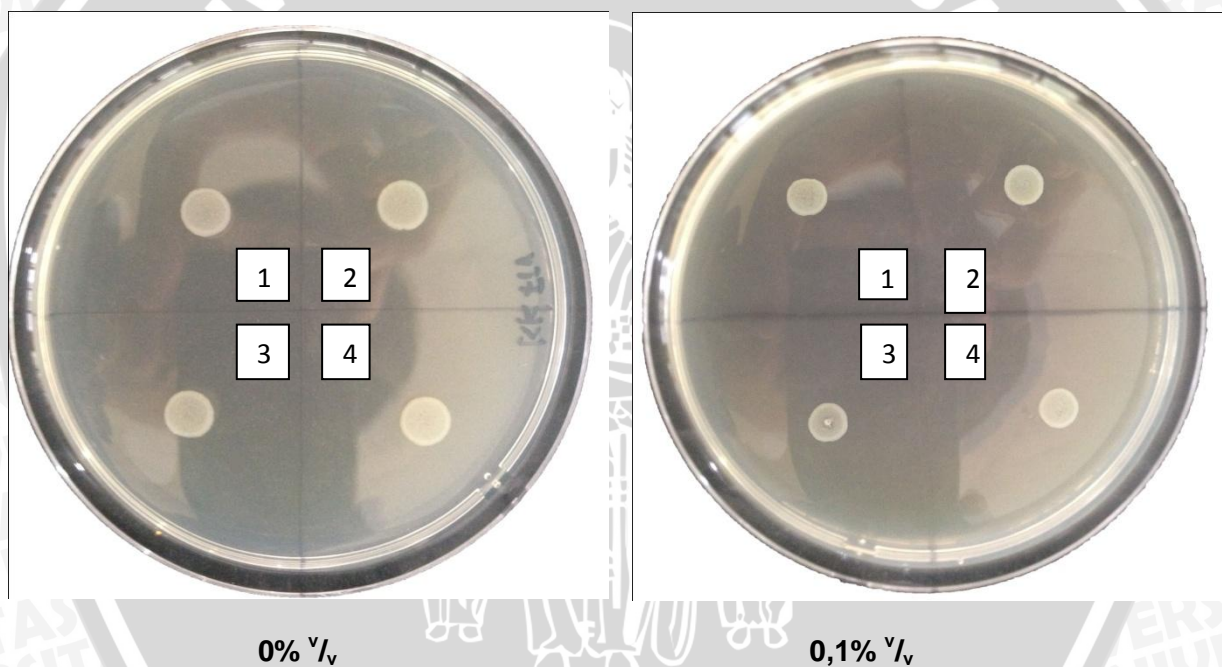
**Gambar 5.2** Identifikasi pada Mac Conkey agar (koloni tidak berwarna)



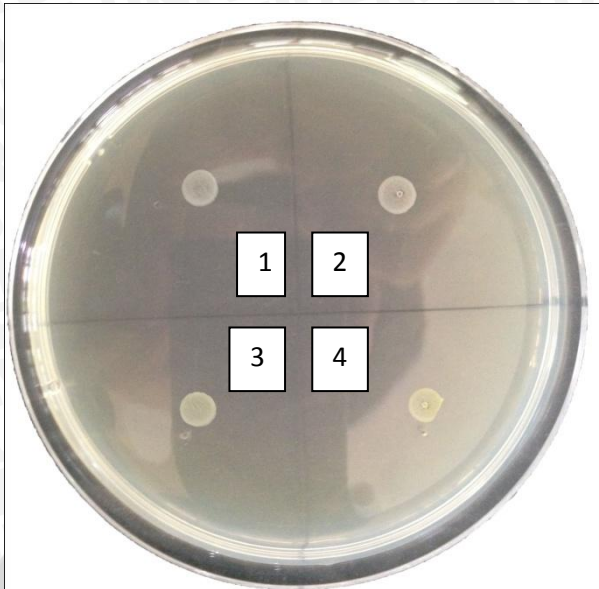
Pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa macam konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah dengan variasi konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%  $\%v/v$  serta satu kontrol bakteri tanpa ekstrak



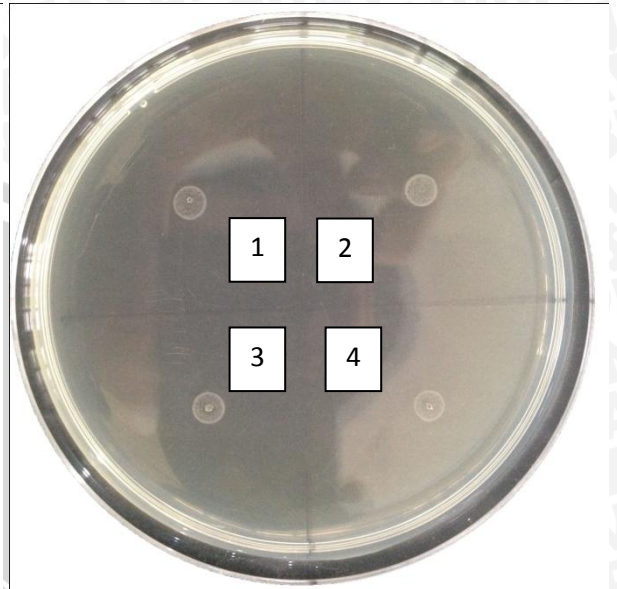
rimpang lengkuas merah (konsentrasi 0%). Pengamatan pertumbuhan koloni untuk menentukan KHM dilakukan tanpa menggunakan alat apapun atau hanya menggunakan mata telanjang. Konsentrasi ekstrak terendah yang dicampurkan pada medium agar yang tidak ditumbuhi koloni menunjukkan Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap bakteri *S. Typhi*. Hasil pertumbuhan *S. Typhi* pada agar yang mengandung berbagai konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah dapat dilihat pada gambar 5.4



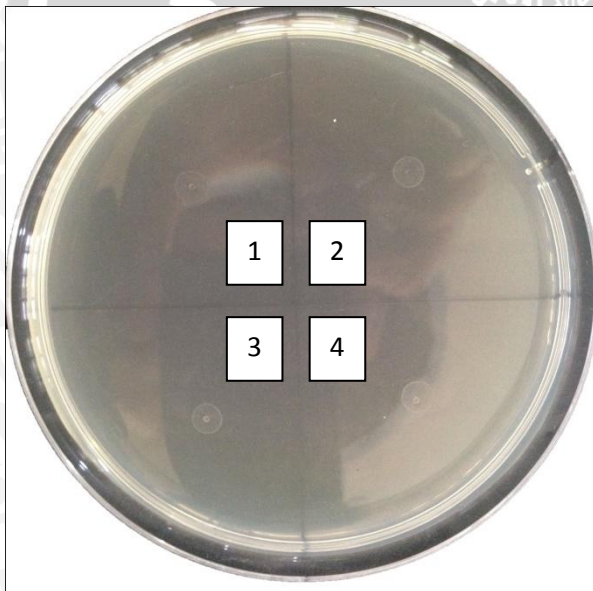




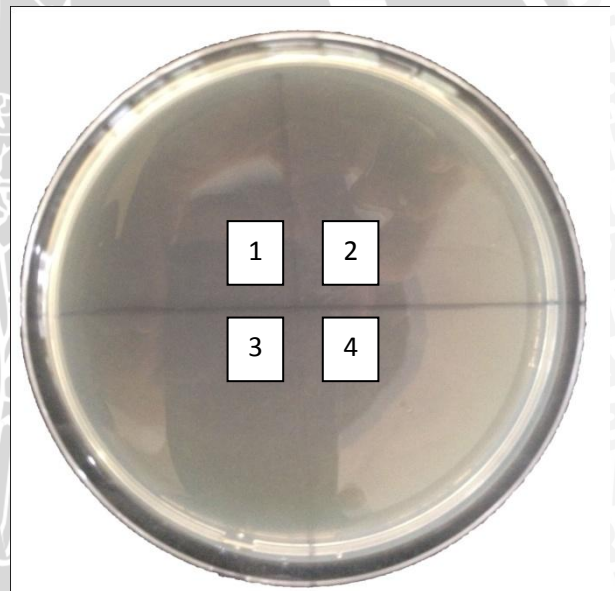
0,2 %



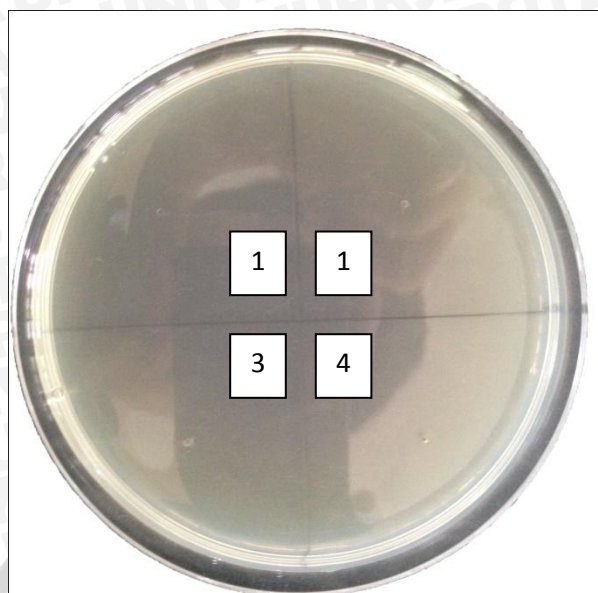
0,3 %



0,4 %



0,5 %



0,6 ‰

**Gambar 5.5 Hasil Inokulasi *S. Typhi* Pada Media MH agar setelah diberi ekstrak rimpang lengkuas merah**

Gambar diatas menunjukkan bahwa pada kontrol bakteri terdapat sejumlah koloni yang tidak dapat dihitung. Semakin tinggi pemberian dosis ekstrak rimpang lengkuas merah maka semakin sedikit pertumbuhan koloni yang dapat dilihat pada tiap spot atau titik-titik tempat penetesan inokulasi bakteri dan semakin kecil diameter pertumbuhan bakteri. Sesuai dengan definisi KHM pada metode dilusi agar, dapat ditentukan bahwa KHM ekstrak rimpang lengkuas merah adalah 0,5% ‰. Hasil pengamatan jumlah koloni dari uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) dapat dilihat pada Tabel 5.1.



**Tabel 5.1 Derajat Pertumbuhan Koloni *Salmonella typhi* dalam beberapa konsentrasi**

Konsentrasi	Pengulangan				Rerata
	I	II	III	IV	
0%	+4	+4	+4	+4	+4
0,1%	+3	+3	+3	+3	+3
0,2%	+3	+3	+3	+3	+3
0,3%	+2	+2	+2	+2	+2
0,4%	+1	+1	+1	+1	+1
0,5%	0	0	0	0	0
0,6%	0	0	0	0	0

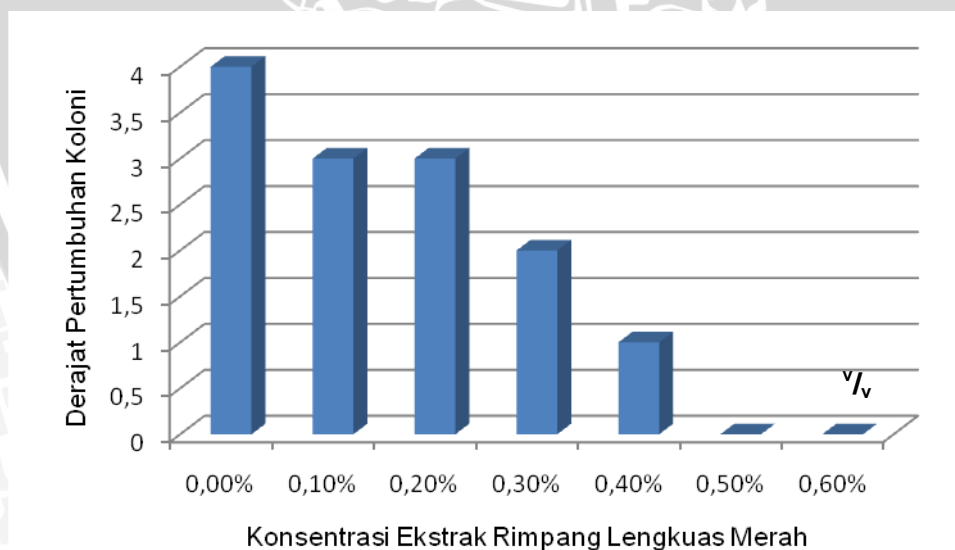
Keterangan: 0 = Tidak ada pertumbuhan koloni bakteri

+1 = koloni bakteri tumbuh sangat tipis, koloni tidak dapat dihitung, bakteri tumbuh sangat sempit/kecil

+2 = koloni bakteri tumbuh tipis, koloni tidak dapat dihitung, bakteri tumbuh sempit/kecil

+3 = koloni bakteri tumbuh tebal, koloni tidak dapat dihitung, diameter koloni lebar

+4 = koloni bakteri tumbuh sangat tebal, koloni tidak dapat dihitung, diameter koloni sangat lebar



**Gambar 5.5 Grafik Diagram Batang Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah Terhadap Pertumbuhan Bakteri S.Typhi**



Berdasarkan hasil pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* agar plate dalam beberapa konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah dan kontrol (konsentrasi 0%), berdasarkan tabel 5.1 menunjukkan hasil yang sangat bervariasi. Adanya perbedaan konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah pada perlakuan memberikan pengaruh atau efek yang berbeda sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* yang dihasilkan pada media Mueller Hinton. Adanya perbedaan pengaruh pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah itu mulai terlihat dimana pada pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* yang dihasilkan pada media Mueller Hinton menjadi lebih sedikit setelah diberikan perlakuan berupa penetesan ekstrak rimpang lengkuas merah mulai 0,1%  $\text{v/v}$  dibandingkan dengan pertumbuhan koloni pada kelompok kontrol (konsentrasi 0%). Lalu kemudian pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* yang ditanam pada medium Mueller Hinton berturut turut semakin kecil ketika diberi penetesan ekstrak rimpang lengkuas merah dengan dosis 0,3%  $\text{v/v}$ , 0,4%  $\text{v/v}$ , dan ketika diberikan penetesan ekstrak rimpang lengkuas merah dengan dosis 0,5%  $\text{v/v}$  dan 0,6%  $\text{v/v}$  menunjukkan sudah tidak ada koloni bakteri yang tumbuh dalam media Mueller Hinton tersebut. Dengan demikian, maka dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah menunjukkan efek yang berbeda, jika dibandingkan kontrol dengan KHM 0,5%  $\text{v/v}$  dan 0,6%  $\text{v/v}$ .

## 5. 2 Analisis data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan program analisis statistic, *IBM SPSS (Statistical Products and Service Solutions) Statistics, version 22.0 for windows*. Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ).

### 5.2.1. Uji asumsi data

Penggunaan uji parametrik memiliki beberapa persyaratan, diantaranya yang bisa dilakukan dengan uji statistic adalah Uji Normalitas dan Uji Homogenitas Data. Jika, dari kedua uji tersebut, didapatkan hasil, sebaran data tidak normal dan varian data tidak homogen, maka digunakan uji non parametrik.

#### 5.2.1.1 Uji Normalitas Data

Untuk menguji normalitas sebaran data pada sampel ada 2 macam uji yang dapat digunakan, yaitu *Kolmogorov Smirnov* dan *Saphiro Wilk*. Pada jumlah sampel lebih dari 50, digunakan uji *Kolmogorov Smirnov* dan sebaliknya pada jumlah sampel kurang dari 50, digunakan uji *Saphiro Wilk*. Karena pada penelitian, jumlah sampel kurang dari 50, digunakan uji *Saphiro Wilk*.

Dari pengujian, didapatkan nilai signifikansi = 0.000 ,karena  $p < 0.05$ , maka  $H_0$  (sebaran data tidak normal) diterima, dan  $H_1$ (sebaran data normal) ditolak. Artinya, sebaran data tidak normal.

#### 5.2.1.2 Uji Homogenitas Data

Untuk menguji variansi data, digunakan uji Levene (*Levene Statistic test of homogeneity of variances*). Dari pengujian varian data, diapatkan nilai signifikansi = 0, karena  $p < 0.05$ , maka  $H_0$  (varian data heterogen) diterima, dan  $H_1$  (varian data homogen) ditolak. Artinya, sebaran data tidak homogen. Selanjutnya, digunakan transformasi data akar kuadrat, dan dilakukan pengulangan uji variansi data yang sama, didapatkan nilai signifikansi tetap, 0.000.

Karena tidak memenuhi uji asumsi normalitas dan homogenitas, maka yang digunakan adalah uji non parametrik.



### 5.2.2 Uji Analisis kruskall Wallis

Berdasarkan hasil penelitian ini, data berupa skor pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* pada *agar dilution test* (lihat lampiran) kemudian diolah dan dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari beberapa konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *S. Typhi* pada *agar plate* dengan menggunakan uji Kruskal Wallis. Hipotesis statistik ditentukan melalui  $H_0$  diterima bila nilai signifikansi yang diperoleh  $\geq \alpha 0,05$ , sedangkan  $H_0$  ditolak jika nilai signifikansi yang diperoleh  $< \alpha 0,05$ .  $H_0$  dari penelitian ini adalah tidak ada perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah antara setiap perlakuan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* pada dilusi *agar plate*. Adapun  $H_1$  dalam penelitian ini adalah terdapat perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah antara setiap perlakuan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S. Typhi* pada dilusi *agar plate*.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ), sehingga  $H_0$  ditolak, dan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.typhi*.

### 5.2.3 Uji Mann-Whitney

Oleh karena Uji Kruskal wallis berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan Uji Mann Whitney digunakan sebagai uji perbandingan berganda (*multiple comparison*) untuk data yang berskala ordinal. Dengan metode ini dapat diketahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. Typhi* pada setiap konsentrasi yang diberikan. Hasil uji Mann Whitney dapat dilihat pada tabel 5.2 sebagai berikut



Tabel 5.2 Nilai Signifikasi (p) pada Uji Mann Whitney

P	0%(kontrol)	0,1%	0,2%	0,3%	0,4%	0,5%	0,6%
0%(kontrol)	-	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*
0,1%	-	-	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*
0,2%	-	-	-	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*
0,3%	-	-	-	-	0,008*	0,008*	0,008*
0,4%	-	-	-	-	-	0,008*	0,008*
0,5%	-	-	-	-	-	-	1,000
0,6%	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : \*berbeda signifikan

Pada hasil uji Mann Whitney terhadap perlakuan pada penelitian diatas, menunjukan adanya perbedaan signifikan kecuali pada perbandingan konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah 0,5% terhadap 0,6%  $\forall$ , dimana tidak terjadi perbedaan yang signifikan berarti dosis minimal untuk membunuh adalah 0,5%  $\forall$ .

#### 5.2.4 Uji Korelasi Spearmann

Berdasarkan hasil analisis pada lampiran dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. Typhi* (Spearmann rho = -0.964, p= 0.000) mempunyai hubungan yang signifikan (p<0,05) dengan arah korelasi yang negatif (karena koefisien korelasi bernilai negatif). Artinya peningkatan konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah akan cenderung menurunkan pertumbuhan bakteri *S. Typhi* yang dihasilkan pada *agar plate* dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah. Nilai korelasi sebesar - 0.964 dapat menunjukkan bahwa terdapat

korelasi yang sangat kuat antara pemberian ekstrak rimpang lengkuas merah dan penurunan pertumbuhan bakteri *S. Typhi* sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi pemberian konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah mengakibatkan semakin rendah pertumbuhan bakteri *S. Typhi*.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1. Penjelasan Singkat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dan membuktikan efek antibakteri dari ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) terhadap bakteri *Salmonella* Typhi. Pada penelitian ini menggunakan metode dilusi agar. Dengan metode dilusi agar dapat mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dari penelitian ini karena pada penelitian pendahuluan Kadar Bunuh Minimal (KBM) tidak dapat ditentukan dengan metode dilusi tabung.

Rimpang lengkuas merah yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Balai Materia Medika kota batu. Rimpang lengkuas merah di ekstrak menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi. Etanol dipilih karena bahan aktif dari rimpang lengkuas merah flavonoid, terpenoid, dan minyak atsiri dapat larut terhadap etanol.

Penelitian ini hanya menggunakan 1 isolat bakteri *S.Typhi* yang diperoleh dari Balai Kesehatan Yogyakarta. Bakteri *S.Typhi* sebelum digunakan telah diidentifikasi menggunakan tes pewarnaan Gram, penanaman di media MacConkey, penanaman di media *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), dan Microbact.

#### 6.2 Penentuan KHM

Dalam menentukan KHM, nilai yang diamati adalah jumlah pertumbuhan koloni pada medium Nutrient agar Plate yang ditetesi  $10^4$  CFU/ml bakteri *S.Typhi* dan diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  kemudian dilihat



pertumbuhannya. Pertumbuhan bakteri berupa spot atau titik-titik yang berdiameter 5-8 mm. Nilai KHM pada metode dilusi agar didefinisikan sebagai konsentrasi dimana bakteri tidak tumbuh. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,1%  $\frac{1}{v}$ , 0,2%  $\frac{1}{v}$ , 0,3%  $\frac{1}{v}$ , 0,4%  $\frac{1}{v}$ , 0,5%  $\frac{1}{v}$ , 0,6%  $\frac{1}{v}$ . Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada konsentrasi 0,5%  $\frac{1}{v}$  dan 0,6%  $\frac{1}{v}$  bakteri tidak tumbuh. Maka dapat ditentukan bahwa KHM ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap bakteri *S.Typhi* adalah 0,5% karena dosis minimal untuk membunuh adalah 0,5%  $\frac{1}{v}$ .

### 6.3 Penelitian Mengenai Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah dan *S. Typhi*

Penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) sebagai antibakteri, diantaranya adalah pada bakteri *Eschericia coli*. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram dan dua metode ekstraksi yaitu dengan n-heksana dan metanol. Hasil penelitian berupa zona hambat atau zona bening yang diukur diameternya. Pada ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) yang diekstrak dengan menggunakan pelarut n-heksana dengan konsentrasi 3,5 %, 4,25 %, 5 %, 5,75 % dan 6,5 %, terhadap bakteri *Escherichia coli*, zona bening (mm) yang didapat berturut-turut adalah 7,6 mm, 9,5 mm, 6,16 mm, 8,66 mm, dan 5,6 mm. Sedangkan pada ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) yang diekstrak dengan menggunakan pelarut metanol dengan konsentrasi 3,5 %, 4,25 %, 5 %, 5,75 % dan 6,5 %, terhadap bakteri *Escherichia coli*, zona bening (mm) yang didapat berturut-turut adalah 7 mm, 8 mm, 6 mm, 8,16 mm, dan 3,33 mm. Dengan kontrol pembanding tetrasiklin 50  $\mu\text{g}/\text{m}$  luas zona hambat 10,33 mm (Chandra *et al.*, 2009).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rahmah pada tahun 2012, yang menggunakan ekstrak rimpang kencur pada *S. Typhi*, didapatkan hasil, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol rimpang kencur terhadap *Salmonella Typhi* didapatkan pada konsentrasi 17,5% dengan diameter hambat 13mm dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol rimpang kencur terhadap *Salmonella Typhi* didapatkan pada konsentrasi 25%. Sehingga, jika dibandingkan, maka ekstrak rimpang lengkuas merah lebih poten, dengan KHM pada konsentrasi 0.5 %<sub>v/v</sub>.

#### 6.4 Mekanisme Anti Bakteri Ekstrak Lengkuas Merah

Bagian tanaman dari lengkuas merah *Alpinia purpurata* yang sering digunakan adalah rimpang. Rimpang lengkuas mengandung minyak atsiri yang terdiri dari metilsinamat, sineol, kamfer,  $\delta$ -pinen, galangin, dan eugenol. Rimpang lengkuas juga mengandung kamfor, galangol, seskuiterpen dan kristal kuning (Hembing, 2001). Selain itu, rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* mengandung senyawa flavonoid, kaempferol-3-rutinoside dan kaempferol-3-oliucronide (Victorio *et al*, 2009). Rimpang lengkuas merah *Alpinia purpurata* dapat digunakan untuk mengobati masuk angin, diare, gangguan perut, penyakit kulit, radang telinga, bronkhitis, dan pereda kejang (Soenanto dan Sri, 2009).

Flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar di alam, terdapat pada semua tumbuhan hijau, termasuk pada ekstrak temu-temuan yang banyak dikonsumsi masyarakat sebagai obat tradisional (Suradikusumah, 1989). Flavonoid telah dikenal luas memiliki aktivitas sebagai senyawa antioksidan, antimelanogenesis, dan antimikroba yang potensi (Sulistyo dan Soeka, 1999). Menurut Dwidjoseputro,

flavonoid merupakan senyawa fenol sementara senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein. Penelitian secara *In vitro* maupun *in vivo* menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam (Sabir, 2003), salah satu diantaranya yakni memiliki aktivitas antibakteri (Mirzoeva, 1997). Senyawa flavonoid di duga mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri (Pelczar, 1998). Senyawa flavonoid bisa diekstraksi menggunakan pelarut etanol (Sabir, 2005).

Telah dilaporkan bahwa minyak atsiri (*volatile oil*) yang diisolasi dari rimpang lengkuas merah mempunyai efek anti mikroba (yuharmen *et al*, 2011). Sebagai senyawa sequesterpenoid, mekanisme antibakteri minyak atsiri (*volatile oil*) diperkirakan melalui proses destruksi membran sel bakteri oleh komponen lipofiliknya (Cowan, 1999). Selain itu minyak atsiri juga bekerja dengan cara mengganggu proses terbentuknya dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004).

Terpenoid adalah senyawa alami yang dikenal aman untuk digunakan. Misalnya carvone, yang bersifat antibakteri dan antifungal, telah digunakan berabad-abad dalam ekstrak minyak biji, jauh sebelum mekanismenya diteliti. Senyawa terpenoid bisa diekstraksi menggunakan pelarut etanol (Arifin *et al*, 2006). Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan golongan terpenoid pada lengkuas merah adalah terpenoid alkohol (Rosyidah, 2009). Senyawa terpenoid menekan aktivitas bakteri dan sekaligus merusak membran sel bakteri (Togashi, *et al* 2008).

Dengan melihat hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa adanya penurunan jumlah koloni bakteri *S. Typhi* seiring dengan peningkatan



konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah yang diberikan. Diperkuat dengan data yang kandungan bahan aktif dari ekstrak rimpang lengkuas merah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. Typhi*, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah terbukti efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. Typhi* secara *in vitro*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang telah disusun sebelumnya benar.

Faktor yang dapat mempengaruhi hasil dari penelitian ini adalah lamanya penyimpanan ekstrak rimpang lengkuas merah. Makin lama disimpan, maka sensitifitas ekstrak kemungkinan akan menurun, bisa juga dikarenakan adanya kesalahan dalam melakukan penelitian tersebut. Untuk itu diperlukan penelitian lanjutan mengenai farmakologi, farmakokinetik, juga uji secara *in vivo* dan *clinical trial* pada manusia perlu dilakukan.

Aplikasi klinis dari penelitian ini masih memerlukan penelitian yang lebih lanjut mengenai standarisasi pemilihan bahan aktif dari rimpang lengkuas merah yang dapat digunakan. Selain itu juga perlu diketahui batasan dosis yang aman untuk ekstrak kulit rimpang lengkuas merah terhadap bakteri *S. Typhi* agar dapat digunakan untuk pengobatan alternative pada masyarakat luas.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah mempunyai efek antibakteri terhadap *S. Typhi*, yang ditunjukan adanya hubungan yang konsisten antara ekstrak rimpang lengkuas merah dengan *S. Typhi*.

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) memiliki efek bakteri terhadap *Salmonella* Typhi.

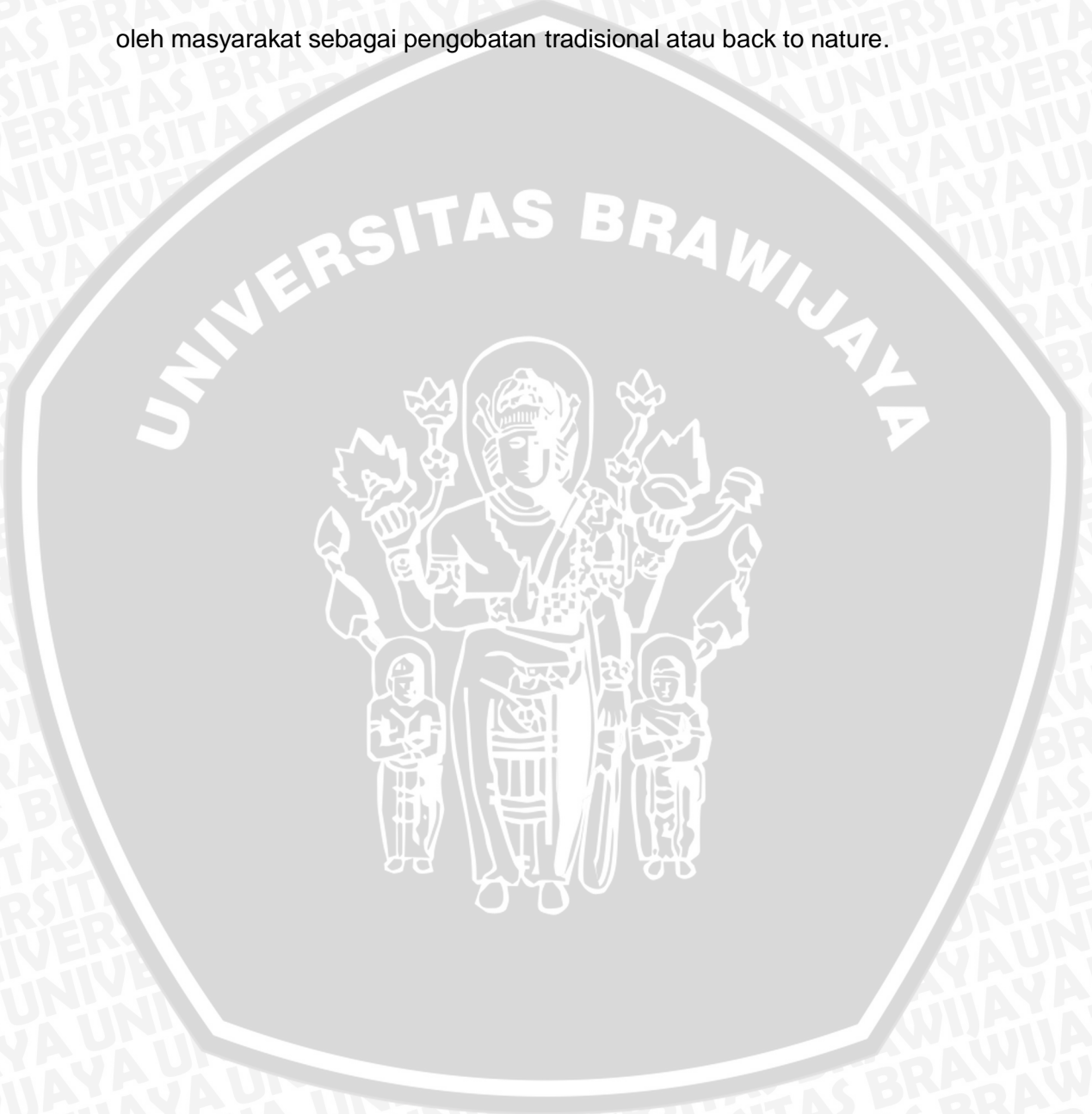
7.1.1 Terdapat hubungan terbalik antara konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dan pertumbuhan bakteri *S. Typhi* yakni semakin besar ekstrak yang digunakan maka jumlah bakteri akan semakin menurun.

7.1.2 Nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. Typhi* secara invitro adalah 0,5%  $V_v$ .

#### 7.2. Saran

- Perlu dilakukan pengujian untuk mengetahui kadar masing-masing zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak rimpang lengkuas merah sehingga dapat dibuat standarisasi kadar zat aktif ekstrak rimpang lengkuas merah.
- Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui dosis efektif, dosis letal, dosis toksik, efek samping serta dilanjutkan dengan pengujian pada manusia sebelum digunakan untuk keperluan pengobatan medis pada masyarakat luas.

- c. Perlu dilakukan penyebaran informasi secara luas mengenai manfaat dari ekstrak rimpang lengkuas merah sebagai antimikroba agar dapat digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan tradisional atau back to nature.





## DAFTAR PUSTAKA

- Alam, A. 2011. *Pola Resistensi Salmonella Enterica Serotipe Typhi*, Departemen Ilmu Kesehatan Anak RSHS, Tahun 2006–2010. Sari Pediatri. Halaman 296-301.
- Ajizah, A. 2004. Sensitifitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. *Bioscientiae Vol 1*(1). Halaman 31-38
- Ansel HC. 2008. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Edisi IV. Jakarta: UI Press.
- Arifin., H, Nelvi., A, Handayani., D, Rasyid., R. 2006. *Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia Cumini Merr. J. Sains Tek Far.*, 11(2). Halaman 88-93.
- Ariyani M, Kusumaningsih T, Rahardjo MB. Daya Hambat Ekstrak Daun Jambu Menten (*Anacardium occidentale*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus sanguis*. *Jurnal PDGI*, 2007, Mei-Ags 2(57): 45.
- Bergey HD, Holt GJ. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology-9*. McGrawHill, USA. Halaman 1-5
- Brooks GF, Butel J.S., Morses S.A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi. 23*. Jakarta: EGC.
- Chandra., Dewi and Welly., Darwis and Choirul., Muslim. 2009. *Uji Efektivitas Rimpang Lengkuas Merah (Alpinia purpurata K.Schum) Sebagai Antibakteri Escherichia coli, Penyebab Diare*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pangan Universitas Bengkulu, Bengkulu.
- CLSI. 2006. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically : *Approved Standard- Seventh Edition*. 26(2) : 13-14
- Fox, G.J., Barthold, S., Davisson, M., Newcomer, E.C., Quimby, W.F. 2006. *The Mouse in Biomedical Research*. Diseases American College of Laboratory. Animal Medicine Series, p. 369-371.
- Dzen SM, Winarsih S, Roekitiningsih D, Santoso S, Sumarno, Islam S, Noorhamdani, Murwani S, Santosaningsih D. 2010. *Bakteriologi Medik*. Putra Media Nusantara., Surabaya, hal. 187-237.
- Farida., JR, Dewa., ACM, Bunga., N, Titis., N, Endrawati., TB. 2007. *Manfaat Sirih Merah (piper crocatum) Sebagai Agen antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.

Fauci., Braunwald., Kasper., Hauser., Longo., Jameson., Loscalzo. 2008. *Harrisons Principles of Internal Medicine*. Mc Graw Hill Medical: United State of America, p. 956-960.

Gariswarna, S.G., 1995. *Farmakologi Dan Terapi*. UI press. Jakarta. Pp 243-244

Greenwood, D.R., Richard C.B., Slack, Jhon F.P. 2007. *Medical Microbiology*. Churchill Livingstone: Nottingham.

Handajani., N. Purwoko., T. 2008. *Aktivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas (Alpinia galanga) terhadap Pertumbuhan Jamur Aspergillus spp. Penghasil Aflatoksin dan Fusarium moniliforme*. Biodiversitas. Volume 9(3). Halaman 161-164.

Hamdani S. 2012. Metode Ekstraksi, (Online), (<http://catatankimia.com/catatan/metoda-ekstraksi.html>), diakses tanggal 2 Januari 2013.

Hembing, H. M. dan Wijakusuma. 2001. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia: Rempah, Rimpang dan Umbi*. Milenia Populer, Jakarta.

Hertani, T; dan Indah, P. 2002. Minyak atsiri hasil Destilasi Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper belle L.*) dari beberapa daerah di Yogyakarta dan Aktifitas Anti Jamur terhadap *Candida albicans*. *Majalah Farmasi Indonesia XIII*(4).

Jawetz E, Menick, & Adelberg E. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 23, Diterjemahkan oleh Huriwati Hartanto, Chaerunisa Rachman, Alife Dimanti, Aryana Diani, Jakarta : EGC. Hal.163-171, 225-232.

Jiang L. 2009. Comparison of Disk Diffusion, Agar Dilution, and Broth Microdilution for Antimicrobial Susceptibility Testing of Five Chitosans, (online), (<http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-06072011-103035/unrestricted/%28Jiang%29thesis.pdf>) diakses tanggal 23 Desember 2012.

Kunaepah, U. 2008. *Pengaruh Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total Dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah*. Tesis. Diterbitkan Oleh Program Studi Megister Gizi Masyarakat Program Pascasarjana Universitas Diponegoro. Semarang.

Meyer C, Stolle A, Ahoma MF. 2011. Comparison of Broth Dilution and Disk Diffusion Test for Antimicrobial Resistance Testing in *Yersinia enterocolicata* strains, *Microbial Drug Resistance*, Vol 17(3).p 479-48

Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. *Antimicrobial Action of Propolis And Some Of Its Components: The Effects On Growth, Membrane Potential, And Motility of Bacteria*. *Microbial res* 1997; 152:239-46.

Murray, PR; Baron EJ; Pfaller MA; Tenover FC; Tenover RH. 1999. *Manual of Clinical Microbiology 7<sup>th</sup> Edition*. America Society For Microbiology.



- Murray, Patrick R; Rosenthal, Ken S. 2005. *Review of Medical Microbiology*. Elsevier Mosby. China, p. 56-58.
- Musnelina, L.; Afdhal, AF; Gani A.; dan Andayani, P. 2004. Pola Pemberian Antibiotika Pengobatan Demam Tifoid Anak Di Rumah Sakit Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan* Vol.8 (1). Halaman 27-31.
- Oxoid. 2003. *Manual Identification system*. Microbact Gram-Negatif 12A, 12B, 12E & 24E (<http://www.oxoid.com/pdf/uk/M-bact-Gram-Neg.pdf>, diakses pada tanggal 10 Desember 2013)
- Parija. 2009. *Textbook of Microbiology & Immunology*. Rajkamal Electric Press. India, p. 165-171.
- Pelczar, MJ. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2* (Terjemahan). Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Permadi., A. 2008. *Membuat Kebun Tanaman Obat*, edisi 1., Pustaka Bunda (grup puspa swara), Anggota Ikapi, Jakarta, Halaman. 38-40.
- Rahmah R. 2012. *Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (Kaempferia galanga Linn) Sebagai Antimikroba terhadap Bakteri Salmonella Typhi Secara In vitro*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Rasmilah. 2001. *Thypus*, USU Digital Library, Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Rosyidah, K. 2009. *Dua Senyawa Terpenoid Alkohol dari Rimpang Lengkuas Merah*. Sains dan Terapan Kimia Vol 2(1). Halaman 42-47.
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans (In Vitro). *Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.)*, Vol 38. No. 3 Juli-September 2005:135-141.
- Seidemann, J. 2005. *World spice plants : economic usage, botany taxonomy*. Springer verlag Berlin Heidelberg: Germany
- Siregar, T., Dhiksawan, F.S., Farida, A. 2011. *Pertumbuhan Streptococcus mutans Pada Bioaktivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas Secara in vitro dan Pemanfaatannya Sebagai Zat Aktif Pada Pasta Gigi*. Jurnal Kimia, 2011, Vol 5 (1): 9-23.
- Soenanto, H. dan S. Kuncoro. 2009. *Obat Tradisional*. PT. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Sulistyo J dan Soeka YS. 1999. *Bioproses Enzimatik Dan Uji Hayati Aktivitas Polifenol-Glikosida Sebagai Senyawa Antimikroba Dan Antimelanogenesis*. Dalam : Kosela Dan WP Suwarsono (Penyunting). *Kimia Bahan Alam*. Prosiding Seminar Nasional. UI-UNESCO, Jakarta.



Suradikusumah E, 1989. *Kimia Tumbuhan*. PAU-IPB, Bogor.

Todar, K. 2008. *Salmonella and Salmonellosis*. (Online), ([http://www.textbookofbacteriology.net/salmonella\\_5.html](http://www.textbookofbacteriology.net/salmonella_5.html)., diakses tanggal 3 desember 2013).

Togashi., N, Yoshihiro., I, Hajime., H, Akihito., T. 2008. Effects of Two Terpene Alcohols on the Antibacterial Activity and the Mode of Action of Farnesol against *Staphylococcus aureus*. *Molecules* 13, p 3069-3076.

Vaishnavi, C. 2013. *Infections of the Gastrointestinal System*. Jaypee Brothers Medical Publishers. India, p. 232-233.

Victorio, C.P., R.M. Kuster, and C.L.S. Lage. 2009. Detection of Flavonoids in *Alpinia purpurata* (Vieil) Schum. Leaves Using High Performance Liquid Chromatography. *Rev. Bras. Pl. Med.* Volume (2), p 147-153.

WHO. 2010. *A study of typhoid fever in five Asian countries: disease burden and implications for controls - Bulletin of the World Health Organization (BLT)*.(online), (<http://www.who.int/bulletin/volumes/86/4/06-039818/en/>, diakses 15 Desember 2013)

Widodo, D. 2009. Buku ajar Ilmu Penyakit Dalam, Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta, hal.2797-2805.

Wagner., Warren L., Darrel R. Herbst., S. H. Sohmer. 1990. Manual of the flowering plants of Hawai'i. ([http://ntbg.org/plants/plant\\_details.php?plantid=463](http://ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=463). diakses tanggal 27 Desember 2013)

Winarto, W. 2003. *Memfaatkan Bumbu Dapur untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. AgroMedia Pustaka. Jakarta. hal. 45-48.

Wulandari., YW. 2009. Karakteristik Minyak Atsiri beberapa Varietas Jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Kimia dan Teknologi*. Halaman 43-50.

Wray, C., Wray, A. 2000. *Salmonella in Domestic Animals*. CAB International. United Kingdom, p. 398-401.

Yulinar, Dirayah R. Husain, Asadi., A. 2013. *Bioaktivitas Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas Merah *Alpinia purpurata* K. Schum Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas Aeruginosa**. Tesis. Tidak diterbitkan, Fakultas MIPA Universitas Hasanudin, Makasar.

Yuharmen, Eryanti., Y, Nurbalatif. 2002. *Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas MIPA Universitas Riau, Riau.